



Marlin



MEDIZIN UND CHEMIE

Abhandlungen

aus den Medizinisch-chemischen Forschungsstätten der
I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft

BAND II

»Boyer-Meister-Lucius«
Leberkuseu a. Rh.

1934

HERRN PROFESSOR
DR. PHIL., DR. MED. h. c.

HEINRICH HÖRLEIN

GEWIDMET

1 JANUAR 1909

1. JANUAR 1934

Der erste Band „Medizin und Chemie“, der über die Tätigkeit unserer medizinisch-chemischen Forschungsstätten berichtet, hat eine gute Aufnahme gefunden. Wir haben uns deshalb entschlossen, den zweiten Band schon jetzt erscheinen zu lassen.

Mit dem Erscheinungstage dieses Bandes, dem 1. Januar 1934, jährt sich zum 25. Male der Tag, an dem Heinrich Hörlein, der Leiter unserer Forschungslaboratorien, in Elberfeld in die Dienste der damaligen Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. eintrat.

Geheimrat Professor Dr. C. Duisberg, der Hörlein vor 25 Jahren in seinen Mitarbeiterstab berief, berichtet in dem vorliegenden Band selbst über die Verdienste dieses Mannes, der in seltener Vollendung die Gelehrtennatur mit der eines Forschers, Technikers und Organisators in sich vereint.

In der Zeit seines 25jährigen Schaffens ist es Hörlein gelungen, der medizinischen Wissenschaft zum Wohle der leidenden Menschheit eine große Anzahl segensreicher und wertvoller Arzneimittel zu geben. Seiner Tatkraft und seiner Initiative ist es weiter zu danken, daß die unter dem Namen „Bayer“ in der ganzen Welt bekannten Präparate sich auf umfassende wissenschaftliche Forschungsstätten stützen können, die allen großen Aufgaben gewachsen sind und unter Hörleins Leitung alle wichtigen Fragen der medizinischen Forschung aufgegriffen haben und unablässig weiterverfolgen.

Wir verbinden mit der Herausgabe dieses Bandes, der Heinrich Hörlein gewidmet ist, im Namen der gesamten Pharmazeutischen Abteilung unsere herzlichsten Glückwünsche und hoffen, daß Hörlein zum Wohle der gesamten Medizin und deutschen Wissenschaft noch viele Jahrzehnte seine schöpferische Kraft der deutschen medizinischen Wissenschaft zur Verfügung stellen möge.

Spitze der pharmazeutischen Forschungsstellen und Fabrikationsbetriebe der früheren Farbenfabriken und jetzigen I. G. Die wissenschaftliche Entwicklung dieser Abteilung zu ihrer heutigen Bedeutung und insbesondere der Ausbau der Eiberfelder chemischen und medizinischen Laboratorien zur größten therapeutischen Forschungsstätte der ganzen Welt sind sein Werk.

Heinrich Hörlein ist geboren zu Wendelsheim in Rheinhessen als Sohn eines Weingutsbesitzers am 5. Juli 1882. Er besuchte zuerst die Realschule zu Alzey und dann die Oberrealschule zu Darmstadt, die er Ostern 1900, noch nicht 18 Jahre alt, mit dem Zeugnis der Reife und der Note I verließ. Er war entschlossen, Chemiker zu werden und ging deshalb auf die Technische Hochschule zu Darmstadt, wo er nach vier Semestern das Verbandsexamen ablegte. Dann siedelte er nach Jena über, angezogen durch die schon erwähnte Antipyrinsynthese von Knorr. Dort studierte er von Ostern 1902 bis Herbst 1903 unter Geheimrat Professor Dr. Ludwig Knorr Chemie, unter Geheimrat Professor Dr. Winkelmann Physik, unter Geheimrat Professor Dr. Julius Pierstorff Nationalökonomie und machte im Dezember 1903 sein Dokorexamen mit der Note „summa cum laude“ in diesen drei Fächern und einer Arbeit über das Thema: „Beiträge zur Kenntnis der Tautomerieerscheinungen bei Verbindungen vom Typus des Acetessigesters“.

Noch während seines Studiums hatte Heinrich Hörlein Gelegenheit gefunden, sich mit den technischen Hilfsmitteln eines modernen Großbetriebes vertraut zu machen. Er arbeitete während der großen Herbstferien der Jahre 1901 bis 1903 und in den anschließenden Wintermonaten als Chemiker in der Zuckerfabrik Großgerau bei Darmstadt, um dann jeweils nach Abschluß der Kampagne sein chemisches Studium wieder aufzunehmen. Einem verlockenden Angebot, nach der Promotion ganz zur Zuckerindustrie überzugehen, widerstand

er aber aus Liebe zur organischen Chemie und zur wissenschaftlichen Forschung.

Am 1. Januar 1904 wurde der junge Doktor Hörlein Assistent und Mitarbeiter seines verehrten Lehrers Knorr und ist es geblieben bis zum Eintritt in unsere Firma am 1. Januar 1909. Wiederholte, in diesen Jahren an ihn gerichtete Angebote zur Habilitation hat Heinrich Hörlein stets abgelehnt, weil ihn abstrakte wissenschaftliche Forschung bei aller Hochschätzung derselben persönlich weniger anzog als eine Arbeit, die an praktisch wichtige Fragestellungen anknüpfte. Dagegen blieb er seiner ursprünglichen Zusage an Geheimrat Knorr getreu, solange in Jena zu bleiben, bis die analytische Bearbeitung des Morphins zu einem gewissen Abschluß gelangt sei. Das benötigte nun nicht weniger als fünf arbeitsreiche Jahre, während deren Hörlein als Assistent bzw. Mitarbeiter von Knorr an etwa zwei Dutzend wissenschaftlicher Publikationen auf dem Morphingebiet beteiligt war. Die Ergebnisse dieser Arbeiten über die verschiedenen Isomeren Morphine, Codeine und Methyilmorphimethine, über den Abbau des Oxycodins und Pseudocodins und die dabei erhaltenen wichtigen Resultate für die Haftstellen der Seitenkette, über Wanderungen dieser Seitenkette und einer Hydroxylgruppe im Phenanthrenkern usw. sind in jedem Lehrbuch der Alkaloidchemie wiedergegeben, so daß ich es mir versagen kann, hier im einzelnen darauf einzugehen.

Knorr und Hörlein war es beim Abbruch der Arbeiten bekannt, daß die Haftstellen des Kohlenstoffatoms der Seitenkette in Stellung 5 des Phenanthrenkerns und die Lage einer Doppelbindung in der von ihnen aufgestellten Morphinformel noch nicht als absolut sicher angesehen werden konnte. In der Tat ist ja auch etwa 20 Jahre später durch die Arbeiten von Robinson und Schöpf die Knorr-Hörleinsche Morphinformel nach dieser Richtung hin modifiziert worden. Dagegen konnte die von Hörlein aus seinen Arbeiten über den Oxycodinabbau

durch Vergleichsschlüsse abgeleitet. Die Chininformel durch die experimentellen Arbeiten von Rabo restlos bestätigt werden.

Hörleins Verzicht auf eine Weiterarbeit im Morphingebiet hatte seinen besonderen Grund. Er war im Laufe dieser Arbeiten, die seitens der Firma Boehringer & Söhne in Mannheim-Waldhof durch Lieferung der kostbaren Rohmaterialien unterstützt wurden, zu dieser Firma in das Verhältnis eines auswärtigen Mitarbeiters getreten und übte seine Tätigkeit während des Semesters in Jena und während der Ferien in Waldhof aus. Das praktische Interesse an seinen Arbeiten war die Durchprüfung aller neuhergestellten Morphinabkömmlinge auf ihre therapeutische Wirkung. Nach dieser Richtung hin war die fünfjährige Arbeit ohne greifbaren Erfolg. Es wurde — worin allein ein wirklicher Fortschritt gegenüber dem Morphin gelegen hätte — bei der pharmakologischen Erprobung und im klinischen Tastversuch kein Produkt gefunden, das bei erhaltengebliebener analgetischer Wirkung nicht auch die Neigung zur Sucht gezeigt hätte. Die Morphin-konstitution selbst aber hatte sich als so kompliziert erwiesen, daß an eine Synthese des Alkaloids nicht zu denken war. Ist sie doch auch heute, also 25 Jahre später, noch nicht durchgeführt. Aus diesen Gründen legte Hörlein den ihm gewordenen Auftrag zur technischen Auswertung seiner wissenschaftlichen Versuche als aussichtslos in die Hände von Dr. Engelhorn, des Inhabers der Firma Boehringer & Söhne zurück, um sich einer neuen Aufgabe zuzuwenden.

Heinrich Hörlein hatte sich im Jahre 1907 verheiratet und es war daher begreiflich, daß er jetzt eine Lebensstellung suchte. Auf Grund seiner Arbeiten, die seinen Namen in den beteiligten Fachkreisen im In- und Auslande bekannt gemacht hatten, boten sich ihm verschiedene Möglichkeiten. Er schwankte eine Weile, wie er sich entscheiden sollte, folgte dann aber meiner Einladung zu einer Besprechung in Elberfeld, bei welcher Gelegenheit ich ihn für unsere Firma verpflichtete.

Ich hatte Dr. Hörlein zum erstenmal zu Pfingsten 1908 kennen gelernt, als ich als Vorsitzender des Vereins Deutscher Chemiker die in jenem Jahre in Jena stattfindende Tagung dieses Vereins leitete. Mit Ludwig Knorr, dem Direktor des Chemischen Instituts der Universität Jena, war ich von München her bekannt und befreundet. Bei meiner Erkundigung, ob er mir nicht einen seiner Schüler für unsere pharmazeutische Abteilung empfehlen könne, wurde ich von ihm auf Hörlein aufmerksam gemacht. Es kam dann zu einem Briefwechsel zwischen Knorr und mir, bei welcher Gelegenheit Knorr seinen Schüler und langjährigen Mitarbeiter wörtlich wie folgt schilderte:

„Hörlein ist ein sehr gescheiter, klarer Kopf und ein hervorragender, tüchtiger Chemiker. Er besitzt umfassende chemische, auch nationalökonomische Kenntnisse, ist ein rascher und durchaus zuverlässiger Arbeiter und besitzt die wichtigste Eigenschaft für den Techniker, eine zähe, zielbewußte Energie.“

Diese Eigenschaften sollte Hörlein nun in Elberfeld bewähren. Er bekam einen Arbeitsplatz in der pharmazeutischen Betriebsabteilung und die Freiheit, über selbstgestellte Aufgaben zu arbeiten. Er ging zunächst einmal freiwillig bei zwei älteren Farbstoffchemikern, Dr. Dressel und Dr. Kothe, in die Schule, indem er unter ihrer Leitung Zwischenprodukte und Farbstoffe unter Anwendung technischer Methoden herstellte. Aber schon sehr bald kam Hörlein mit einem eigenen Vorschlag, nämlich einmal Farbstoffe mit Sulfanilidgruppen darzustellen. Der Gedanke erwies sich als fruchtbar. Die erhaltenen Farbstoffe wiesen bemerkenswerte Lichtechtheit auf, und noch im ersten Halbjahr seiner Elberfelder Tätigkeit waren eine ganze Anzahl wertvoller Anilidfarbstoffe, zwei Supramingelb, zwei Supraminrot und das Walakororange, aufgefunden worden. Einige Jahre später sind von anderer Seite auch die Carbonsäureanilidfarbstoffe als besonders echt

erkannt und als Pigmentfarben bzw. Naphtholrotfarben in den Handel gebracht worden.

Hörlein selbst hat sich an dem weiteren Ausbau der Anilinfarben nicht mehr betätigt, da er nach diesem kurzen Abstecher ins Farbengebiet wieder zur alten Liebe, der pharmazeutischen Chemie, zurückkehrte.

Er begann mit der Ausarbeitung neuer Verfahren zur Überführung von Morphin in seinen Methyläther, das Codein, und fand schließlich in den quaternären Ammoniumbasen ein Alkylierungsmittel, das im Gegensatz zu den Halogenalkylen und dem Dimethylsulfat keine störende Nebenalkylierung am Morphinstickstoff gibt. Das Verfahren wurde, da wir selbst Codein nicht herstellten, von der Firma Boehringer & Sohn in Niederlingheim übernommen. Wenn man den Äußerungen in der Literatur Glauben schenken kann, wird heute das Codein in der gesamten Welt, soweit es aus Morphin synthetisiert wird, nach diesem Verfahren hergestellt.

Weitere, bald nach seinem Eintritt in Angriff genommene Arbeiten von Hörlein bezogen sich auf die technische Herstellung des p-Oxyphenyläthylamins und β -Imidazolyläthylamins (zwei Basen, die — im geeigneten Verhältnis kombiniert — das Uterusmittel Tenosin darstellen), auf den Aufbau des Hydrastinin nach dem Verfahren von Decker und auf die Herstellung von Schlafmitteln, die an Stelle zweier Äthylgruppen je eine Äthyl- und Phenylgruppe enthalten. Das Resultat dieser letzten Untersuchungsreihe war das Luminal, das heute noch das Mittel der Wahl bei Epilepsie ist und Hunderttausende von Epileptikern der ganzen Welt frei von Anfällen hält, aber auch als heroisches Schlafmittel und Spasmolyticum eine ausgedehnte Anwendung findet.

Nachdem Hörlein so während der ersten anderthalb Jahre seiner Elberfelder Tätigkeit auf verschiedenen Gebieten in eigener Arbeit eine glückliche Hand bewiesen hatte, machte ich ihm schon Mitte des Jahres 1910 den Vorschlag, die

Verantwortung für das pharmazeutisch-wissenschaftliche Laboratorium unserer Firma zu übernehmen, das damals unter der Leitung von Dr. Fritz Hofmann, des jetzigen Direktors des Kohlenforschungs-Instituts in Breslau, stand. Hofmann war durch seine Kautschukarbeiten so in Anspruch genommen, daß im pharmazeutisch-wissenschaftlichen Laboratorium eine Lücke entstanden war, die von Hörlein ausgefüllt werden sollte. Von jetzt an trat für ihn die Aufgabe in den Vordergrund, anregend und befruchtend auf die Tätigkeit seiner Mitarbeiter einzuwirken. Daß ihm dies in hohem Maße gelungen ist, beweist die große Anzahl wertvoller Heilmittel, die seit jener Zeit in den wissenschaftlichen Laboratorien in Elberfeld aufgefunden worden sind, die aber an dieser Stelle einzeln aufzuzählen viel zu weit führen würde.

Bis zu meiner Übersiedlung nach Leverkusen im Jahre 1912 hatte ich Gelegenheit, die Tätigkeit von Hörlein aus nächster Nähe zu beobachten, weil ich bis zu diesem Zeitpunkt das Dezernat für die pharmazeutische Abteilung im Direktorium unserer Firma selbst verwaltete. Später ging dann auch die Oberleitung der pharmazeutischen Abteilung mehr und mehr in die Hände von Dr. Hörlein über. Parallel mit seinen Funktionen entwickelte sich seine Stellung innerhalb unserer Firma. Er wurde im Dezember 1911 Abteilungsvorstand, am 1. Januar 1914 Prokurist, am 1. Mai 1919 stellvertretender Direktor und am 1. Januar 1921 stellvertretendes Vorstandsmitglied der damaligen Farbenfabriken vormals Friedrich Bayer & Co., am 1. Januar 1931 ordentliches Mitglied des Vorstandes sowie im Jahre 1933 Mitglied des Zentralausschusses der I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft.

Auch außerhalb unserer Firma fand Heinrich Hörlein die verdiente Anerkennung für seine Tätigkeit. So wurde er z. B. von der medizinischen Fakultät der Universität München zum Ehrendoktor und vom Reichsinnenministerium zum Mitglied des Reichsgesundheitsrats ernannt, von der Deutschen

erkannt und als Pigmentfarben bzw. Naphthoiothfarben in den Handel gebracht worden.

Hörlein selbst hat sich an dem weiteren Ausbau der Anilidfarben nicht mehr beteiligt, da er nach diesem kurzen Abstecher ins Farbengebiet wieder zur alten Liebe, der pharmazeutischen Chemie, zurückkehrte.

Er begann mit der Ausarbeitung neuer Verfahren zur Überführung von Morphin in seinen Methyliäther, das Codein, und fand schließlich in den quaternären Ammoniumbasen ein Alkylierungsmittel, das im Gegensatz zu den Halogenalkylen und dem Dimethylsulfat keine störende Nebenalkylierung am Morphinstickstoff gibt. Das Verfahren wurde, da wir selbst Codein nicht herstellten, von der Firma Boehringer & Sohn in Niederingelheim übernommen. Wenn man den Äußerungen in der Literatur Glauben schenken kann, wird heute das Codein in der gesamten Welt, soweit es aus Morphin synthetisiert wird, nach diesem Verfahren hergestellt.

Weitere, bald nach seinem Eintritt in Angriff genommene Arbeiten von Hörlein bezogen sich auf die technische Herstellung des p-Oxyphenyliäthylamins und β -Imidazoilyäthylamins (zweier Basen, die — im geeigneten Verhältnis kombiniert — das Uterusmittel Tenosin darstellen), auf den Aufbau des Hydrastinins nach dem Verfahren von Decker und auf die Herstellung von Schlafmitteln, die an Stelle zweier Äthylgruppen je eine Äthyl- und Phenylgruppe enthielten. Das Resultat dieser letzten Untersuchungsreihe war das Luminal, das heute noch das Mittel der Wahl bei Epilepsie ist und Hunderttausende von Epileptikern der ganzen Welt frei von Anfällen hält, aber auch als heroisches Schlafmittel und Spasmolyticum eine ausgedehnte Anwendung findet.

Nachdem Hörlein so während der ersten anderthalb Jahre seiner Elberfelder Tätigkeit auf verschiedenen Gebieten in eigener Arbeit eine glückliche Hand bewiesen hatte, machte ich ihm schon Mitte des Jahres 1910 den Vorschlag, die

Verantwortung für das pharmazeutisch-wissenschaftliche Laboratorium unserer Firma zu übernehmen, das damals unter der Leitung von Dr. Fritz Hofmann, des jetzigen Direktors des Kohlenforschungs-Instituts in Breslau, stand. Hofmann war durch seine Kautschukarbeiten so in Anspruch genommen, daß im pharmazeutisch-wissenschaftlichen Laboratorium eine Lücke entstanden war, die von Hörlein ausgefüllt werden sollte. Von jetzt an trat für ihn die Aufgabe in den Vordergrund, anregend und befruchtend auf die Tätigkeit seiner Mitarbeiter einzuwirken. Daß ihm dies in hohem Maße gelungen ist, beweist die große Anzahl wertvoller Heilmittel, die seit jener Zeit in den wissenschaftlichen Laboratorien in Elberfeld aufgefunden worden sind, die aber an dieser Stelle einzeln aufzuzählen viel zu weit führen würde.

Bis zu meiner Übersiedlung nach Leverkusen im Jahre 1912 hatte ich Gelegenheit, die Tätigkeit von Hörlein aus nächster Nähe zu beobachten, weil ich bis zu diesem Zeitpunkt das Dezernat für die pharmazeutische Abteilung im Direktorium unserer Firma selbst verwaltete. Später ging dann auch die Oberleitung der pharmazeutischen Abteilung mehr und mehr in die Hände von Dr. Hörlein über. Parallel mit seinen Funktionen entwickelte sich seine Stellung innerhalb unserer Firma. Er wurde im Dezember 1911 Abteilungsvorstand, am 1. Januar 1914 Prokurist, am 1. Mai 1919 stellvertretender Direktor und am 1. Januar 1921 stellvertretendes Vorstandsmitglied der damaligen Farbenfabriken vormals Friedrich Bayer & Co., am 1. Januar 1931 ordentliches Mitglied des Vorstandes sowie im Jahre 1933 Mitglied des Zentralausschusses der I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft.

Auch außerhalb unserer Firma fand Heinrich Hörlein die verdiente Anerkennung für seine Tätigkeit. So wurde er z. B. von der medizinischen Fakultät der Universität München zum Ehrendoktor und vom Reichsinnenministerium zum Mitglied des Reichsgesundheitsrats ernannt, von der Deutschen

Chemischen Gesellschaft zum Vizepräsidenten und von der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte zum Schatzmeister erwählt.

Unbeschadet aller dieser Funktionen innerhalb und außerhalb unserer Firma ist aber Heinrich Hörlein ietzten Endes das gebloben, was er sich als junger Student, der sich an dem ersten synthetischen Arzneimittel begeisterte, als Ziel gesteckt hatte: ein Forscher auf dem Gebiet der pharmazeutischen Chemie, allerdings in weitestem Umfang. Die von ihm im Laufe der Jahre errichteten Forschungsstätten in Elberfeld umschließen neben einem Laboratorium für Gewerbehygiene sämtliche theoretischen Fächer einer medizinischen Fakultät: Pharmakologie und Physiologie, Bakteriologie, Chemotherapie und experimentelle Pathologie. Die Leiter dieser Institute, wie überhaupt alle seine Mitarbeiter, hat sich Heinrich Hörlein, getragen vom Vertrauen seiner Firma, in selbständigem Entschluß persönlich ausgesucht. Ihre wissenschaftlichen Abhandlungen in diesem Bande legen Zeugnis ab, daß Hörleins Wahl die richtige war. Umfangreiche chemische Abteilungen, ein biochemisches und physikalisches Laboratorium ergänzen die Elberfelder Forschungsinstitute, in denen insgesamt etwa 50 Akademiker tätig sind, zu einem abgerundeten Ganzen. Ein der pharmazeutischen Abteilung angegliedertes Pflanzenschutz-Laboratorium ist aus äußeren Gründen in Leverkusen errichtet worden. Es arbeitet aber ebenso wie die pharmazeutischen Forschungsinstitute in Höchst und in Marburg in engem Zusammenhang mit den Elberfelder Laboratorien. Die Zusammengehörigkeit aller dieser Institute findet in diesem Bande gleichfalls ihren sinnfälligen Ausdruck.

Überblickt man diese aus reiner Privatinitiative entstandene Riesenorganisation, so zieht man unwillkürlich einen Vergleich mit anderen Ländern. Das Rockefeller-Institut in New York basiert auf großen Stiftungen eines reichen Mäzens, das National Institute for Medical Research in London auf

jährlichen Bewilligungen des englischen Parlaments, die sich auf Millionen von Reichsmark belaufen. Auch das Institut Pasteur in Paris wird in ähnlicher Weise durch Stiftungen und Staatszuwendungen finanziert. Ich glaube, daß Deutschland stolz darauf sein kann, daß es trotz alledem auf dem Gebiete der Erforschung und Herstellung neuer Arzneimittel seinen Platz in der Welt behaupten konnte. Möchte es Heinrich Hörlein beschieden sein, noch recht lange dabei mitzuwirken, daß das auch in Zukunft so bleibt.

LEVERKUSEN a. Rh.

DR. CARL DUISBERG

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

<i>C. L. Lautenschläger</i>	Die adenotropen Hormone der Hypophyse	19
<i>W. Schudemann</i>	Chemische Konstitution und experimentell-therapeutische Wirkung aromatischer Quecksilberverbindungen	39
<i>L. Benda</i>	Chemotherapeutische Arsenpräparate .	48
<i>G. Domagk</i>	Über den Wert der Tiertumoren für experimentell-therapeutische Arbeiten im Laboratorium	62
<i>R. Bieling</i>	Allergie und Infektionsablauf	76
<i>H. Schmidt-Elberfeld</i>	Über innere Komplexsalze in der Medizin	93
<i>H. Schmidt-Marburg</i>	Über Beziehungen zwischen Antigen und Antikörper	104
<i>F. Laquer, K. Döttl, H. Friedrich</i>	Beitrag zur Kenntnis des gonadotropen Hypophysenvorderlappen-Hormons (Prolan)	117
<i>E. Gross</i>	Über die Verträglichkeit der Chloride der Methans	123
<i>O. Schaumann</i>	Über die Herzwirkung einiger Inhalationsnarkotica	130
<i>H. Weese, Chr. Wiegand</i>	Zur Begründung der Kombinationstherapie Digitalis-Coffein	148
<i>R. Rigler</i>	Neue Probleme der Nebennierenpathologie.	156
<i>G. Hecht</i>	Zur Stoffverteilung im Organismus	167
<i>F. Schultz</i>	Wege zur Auffindung des Kallikrein (Pudrin) und seiner biologischen Zusammenhänge	177
<i>W. Ludwig</i>	Die Wirkstoffe in der Bauchspeicheldrüse .	186
<i>R. Fußgänger</i>	Ein Beitrag zum Wirkungsmechanismus des männlichen Sexualhormons	194
<i>Fr. Lange, A. Bohue</i>	Die Verwendung von Fermenten in der Lebensmittelindustrie	205
<i>M. Bockmuhl</i>	Die chemische Synthese des Nebennierenmark-Hormones	213
<i>A. Wiegler</i>	Über Farbstoffe und Methylenblau in medizinisch-chemischer Forschung	233
<i>F. Schönhöfer</i>	Spasmolytisch wirkende Verbindungen der Chinolinreihe	239

<i>H. Weyland, O. Ripke</i>	Beiträge zur Chemie der Allergene	244
<i>R. Schnitzer</i>	Zur Aviditätsbestimmung neuerer Arsenobenzolpräparate (Myo-Salvarsan, Solu-Salvarsan)	253
<i>W. Kikuth</i>	Die Chemoprophylaxe der Malaria	263
<i>W. Kropp</i>	Über Beziehungen von Kunststoffen zur Medizin	269
<i>F. Miesch</i>	Über den vitalen Entfärbungsvorgang bei Triphenylmethanfarbstoffen	276
<i>O. Linserl</i>	Zur Photochemie des Ergosterins	281
<i>B. Pützer</i>	Das Berberin und seine Derivate in der Therapie der Orientbeule	288
<i>L. Taub</i>	Über Chaulmoograsäuren und ihre Derivate	295
<i>A. Demnitz</i>	Zur Frage der Identität des Bac. gigas (Zeissler) und des Erregers einer im Andengebiet Nord- und Südamerikas vorkommenden Hämoglobinurie der Rinder	303
<i>J. Stephan</i>	Über Milzbrand-Impfungen und Milzbrand-Impfstoffe	310
<i>F. Lindner</i>	Zur Chemie der Tuberkelbazillen und des Tuberkulins	329
<i>H. Schultze</i>	Über die Reduktion organischer Farbstoffe durch Bakterien und ihre Bedeutung als biologische Nachweisreaktion	339
<i>E. Dörzbach</i>	Kolloid-physiko-chemische Methoden in der Pharmakologie	347
<i>G. Ehrhart</i>	Die hypnophore Gruppe	356
<i>O. Eisleb</i>	Vom Cocain zum Pantocain Der Werdegang der örtlichen Betäubung	364
<i>H. Andersag</i>	Versuche in der Isochinolinreihe	377
<i>J. Reitmann</i>	Über eine neue Synthese des Ricinins	384
<i>W. Bonrath</i>	Die Bekämpfungsmittel von Pflanzenschädlingen in ihrer Beziehung zu Farb- und Arzneistoffen	389
<i>W. Lode</i>	Beiträge zur statistischen Auswertung biologischer Reihenversuche	398
<i>O. Wagner</i>	Die Kinematographie im Dienste der medizinisch-biologischen Forschung	410

Die adenotropen Hormone der Hypophyse

PROF. DR. ING., DR. MED. C. L. LAUTENSCHLÄGER
Frankfurt a. M.-Hochst

Nicht weniger wertvoll und interessant als die in jüngster Zeit geglückte Reindarstellung verschiedener Inkrete sind die vielseitigen Untersuchungen aus den letzten Jahren, die uns genaueren Einblick in die Wechselbeziehungen zwischen Hypophyse und anderen innersekretorischen Organen verschafft haben. Aus den bisher vorliegenden experimentellen Ergebnissen muß man schließen, daß die Hypophyse, und in erster Linie ihre Vorderlappenfunktionen, für die Regelung einer Reihe von hormonal bedingten physiologischen Reaktionen verantwortlich zu machen sind. Diejenigen Wirkstoffe des Vorderlappens der Hypophyse, deren unmittelbare Erfolgsorgane wieder Drüsen mit eigener innersekretorischer Leistung sind, könnte man zweckmäßig unter dem Sammelnamen „adenotrope“ Hormone zusammenfassen. Auf diesen Einfluß, welchen die Funktionen der Gehirndrüse auf die Leistungen verschiedener innersekretorischer Drüsen haben, möchte ich mit folgendem näher eingehen.

I. Die gonadotropen Hormone.

Schon lange vermutete man auf Grund klinischer Beobachtungen Wechselbeziehungen zwischen Hypophysenvorderlappen und der Geschlechtssphäre; manche Bilder der menschlichen Pathologie, die mit sexuellen Störungen verbunden sind, führte man auf hypophysäre Anomalien zurück, so z. B. das Bild der Dystrophia adiposo-genitalis oder das Auftreten einer Amenorrhoe und die Veränderungen am Ovar bei der Akromegalie der Frau. Es ist das große Verdienst *B. Zondeks*, für diese Zusammenhänge den experimentellen Beweis geliefert und die Funktionen des Vorderlappens als Motor oder Regulator der Keimdrüsen charakterisiert zu haben. Im Jahre 1926 teilte er erstmalig

mit (1), daß es ihm gelungen sei, durch Implantation von Hypophysenvorderlappen weibliche infantile Mäuse zu einer vorzeitigen Geschlechtsreife zu bringen. Unabhängig von ihm veröffentlichte dann 10 Monate später *Smith* (2) in Kalifornien eine analoge Beobachtung. Durch umfangreiche Versuche wurden diese interessanten Befunde von einer großen Zahl von Forschern weiter vertieft. Das Ergebnis dieser vielseitigen Untersuchungen läßt sich dahin zusammenfassen, daß der Vorderlappen die zentrale Stelle ist, welche die Tätigkeit der Keimdrüsen auf hormonalem Wege regelt. Am eingehendsten ist der Einfluß der gonadotropen Hormone auf den weiblichen Sexualapparat studiert, da die hormonale Wirkung des Vorderlappens sich am sinnfälligsten am Ovar zeigt. Der Hypophysenvorderlappen produziert zwei derartige übergeordnete Sexualhormone, eines, das die Follikelreifung bewirkt, das Follikelreifungshormon, Hypophysenvorderlappen-Hormon A bezeichnet, und ein zweites, das die Umwandlung des Follikels in den gelben Körper verursacht, das Luteinisierungshormon, HVL-Hormon B genannt. Unter der Einwirkung des Reifungshormons beginnen die Follikel zu wachsen und sich allmählich zu dem bekannten Bild des reifen *Graafschen* Follikels zu entwickeln. Diese reifen Follikel beginnen nun ihrerseits eine hormonale Tätigkeit zu entfalten; sie produzieren das Follikelhormon¹⁾. Als tertiäre Folge des sekundär auf Anregung des Vorderlappen-Reifungshormons produzierten Follikelhormons treten dann die Erscheinungen der Brunst mit ihren charakteristischen Veränderungen an der Vaginalschleimhaut auf und der Uterus beginnt, sich durch Proliferation der Schleimhaut und der Muskulatur auf die zu erwartende Schwangerschaft vorzubereiten. Das Luteinisierungshormon veranlaßt die Umwandlung der Follikel in corpora lutea durch Wucherung der Thecazellen und teilweise Luteinisierung der Granulosazellen. Tritt diese Luteinisierung bei künstlicher Zufuhr des Luteinisierungshormons

¹⁾ Andere Bezeichnungen der Literatur: Follikulin, Menformon, Theelin, Thelikinin, Feminin

an unreifen Follikeln ein, so wird das unreife Ei von den wuchernden Thecazellen eingeschlossen, es entstehen die sogenannten corpora lutea atretica; wirkt das Luteinisierungshormon auf reife Graafsche Follikel, so erfolgt der Follikelsprung und der geplatzte Follikel wandelt sich in ein echtes corpus luteum um.

Besonders gut lassen sich die Verhältnisse am Kaninchen studieren, bei dem ohne Deckakt ebenso wie bei der Katze und beim Frettchen keine Ovulation erfolgt. Nach den Untersuchungen von *Parkes* und Mitarbeitern (3) erfolgt etwa zehn Stunden nach dem Deckakt der Follikelsprung, der bei Tieren ohne Hypophyse ausbleibt. Anaesthesierung der Scheidenschleimhaut verhindert diesen Vorgang nicht, wohl aber Durchtrennung des Hals-sympathicus. Nach *Friedmann* (4) erfolgt bei intravenöser Injektion von Schwangerenharn bei Kaninchen Ovulation; er hat diese Beobachtung für einen Schwangerschafts-Schnelltest vorgeschlagen. *Philipp* (5) hat die bemerkenswerte Beobachtung gemacht, daß die Kaninchenhypophyse nur Reifungshormon enthält zum Unterschied von der Hypophyse des spontan ovulierenden Menschen. *Leonard* (6) glaubt, daß für die Ovulation weder IIVL-Hormon A noch B, sondern ein eigenes Hormon maßgebend ist.

Die corpora lutea beginnen nun ihrerseits, also wieder als sekundäre Folge dieses zentralen hormonalen Impulses von seiten des Vorderlappens, ein weiteres Hormon zu produzieren, das Corpus-luteum-Hormon, auch Lutin oder nach seiner Wirkung von *Corner* und *Allen* (7) (8) Progesterin genannt. Unter der Wirkung dieses Hormons verwandelt sich die durch das Follikelhormon proliferierte Uterusschleimhaut in die praegravide oder progesterive Phase und ist dann für die Einbettung des inzwischen die Tuben durchwandernden Eies bereit. Ist das Ei befruchtet, so entwickelt sich an der Einbettungsstelle ein neues Organ, die Placenta. Diese hat nicht nur die Aufgabe, die Ernährung der Frucht zu gewährleisten; beim Menschen und bei bestimmten Tieren übernehmen die Placenta bzw. die Chorionzotten auch die Produktion von Follikulin¹⁾ und sehr wahrscheinlich auch von Reifungs- und Luteinisierungshormon. *Maroudis* (10) konnte diese Hormone bereits in 2—3 Wochen alten menschlichen Eiern

¹⁾ *Waldstein* (9) hat dies durch eine Beobachtung sichergestellt: bei einer Schwangeren, deren Ovarien wegen Tumoren entfernt wurden, konnte auch weiterhin Follikulin im Blute und Harn von ihm nachgewiesen werden.

nachweisen; nur die Produktion des Corpus-luteum-Hormons bleibt dem Ovar vorbehalten. Diese Hormonproduktion erfolgt in so verschwenderischer Weise, daß die genannten Hormone in großen Mengen durch den Harn ausgeschieden werden. Der Nachweis der Hormone gelingt schon in sehr kleinen Mengen im Harn und gestattet so eine exakte Schwangerschaftsreaktion, die von *Aschheim* und *Zondek* (11) (12) ausgearbeitet wurde. Wo die verschiedenen Hypophysenvorderlappen-Hormone bei der schwangeren Frau gebildet werden, kann trotz eingehender Untersuchungen mit Sicherheit noch nicht gesagt werden. Vieles spricht für den placentaren Ursprung der im Harn ausgeschiedenen Hormone. So konnte *Philipp* (13) in der Hypophyse während der Schwangerschaft kein Hypophysenvorderlappen-Hormon nachweisen, während *Zondek* festgestellt hat, daß bei Tieren, die kein Hormon im Harn ausscheiden, der Hormongehalt der Hypophyse in der Schwangerschaft nicht wesentlich vermindert ist. Sicher ist aber, daß während der Schwangerschaft die Placenta bei der Hormon ausscheidenden Frau reich an Hypophysenvorderlappen-Hormon ist, während in der Placenta von Tieren, die kein Hypophysenvorderlappen-Hormon ausscheiden, kein Hormon gefunden wurde. Aus diesen Befunden läßt sich schließen, daß die Hormonausscheidung im Harn parallel mit dem Hormongehalt der Placenta, nicht jedoch mit dem der Hypophyse geht. Einen weiteren Beitrag zu dieser Frage konnten wir selbst liefern: *Zondek* hat festgestellt, daß eine infantile Maus etwa 5—6mal mehr an Hormon zur Auslösung der sexuellen Frühreife braucht als die viel schwerere infantile Ratte; diese Relation konnten wir bestätigen. Wir machten jedoch gleichzeitig die bemerkenswerte Feststellung, daß dieses ungewöhnliche Verhältnis für die aus dem Vorderlappen der Gehirndrüse gewonnenen Hormone nicht zutrifft. Hier gelten, wie auch sonst, die allgemein üblichen Verhältnisse, daß das schwerere Tier auch größere Dosen braucht als das kleinere. Wir fanden, daß die 30 bis 40 g schwere infantile Ratte eine 5 mal größere Hormonmenge

aus Vorderlappen benötigt als die 6—8 g schwere infantile Maus. Die Untersuchungen der aus menschlicher Placenta gewonnenen sogenannten Vorderlappenhormone an Maus und Ratte ergaben nun, daß für diese die gleichen ungewöhnlichen Verhältnisse zwischen Maus- und Ratteneinheiten gelten wie für die Harnhormone. Diese Untersuchungsergebnisse lassen den Schluß zu, daß die Hypophysenhormone, welche mit dem Harn ausgeschieden werden, in manchen Fällen wohl aus der Placenta stammen. Auch eine präzise Antwort auf die Frage, ob es sich bei dem von Zondek erstmals aufgefundenen Vorderlappenhormon um ein oder zwei Hormone handelt, kann noch nicht gegeben werden. Doch entspricht die Annahme der Existenz eines Follikelreifungshormons (HVL-Hormon A) und eines Luteinisierungshormons (HVL-Hormon B) noch am besten dem vorliegenden Tatsachenmaterial. So ist es uns z. B. gelungen, aus Hypophysenvorderlappen unter gewissen Bedingungen Fraktionen zu gewinnen, die ohne erkennbare Follikelreifung und Vergrößerung des Uterus die Bildung von corpora lutea bewirkten; umgekehrt erhielten wir Fraktionen aus dem gleichen Ausgangsmaterial, bei denen die Follikelreifung im Vordergrund stand, Beobachtungen, die auch von Aschheim (14) und anderen Autoren (15—18) gemacht wurden. Aschheim und Zondek (19) (20) konnten unter gewissen pathologischen Umständen, vor allem bei Genitalkarzinom und auch nach Kastrationen und im Klimakterium von Patientinnen Hormone gewinnen, die nur Follikelreifung bewirkten.

Nach diesen Untersuchungsergebnissen ist es doch wahrscheinlich, daß zwei übergeordnete Sexualhormone im Vorderlappen vorkommen, wofür allerdings der exakte Beweis noch durch Reindarstellung dieser beiden Hormone zu liefern ist. Die dahingehenden Versuche von Ferold und Mitarbeitern (21) (22) bedürfen noch einer eingehenden Nachprüfung. Bis dahin besteht noch die Möglichkeit, daß die dem HVL-Hormon A bzw. B zugeschriebenen differenten Wirkungen nur die Folgen verschiedener Dosierungen oder korrelativer Beziehungen zu anderen Inkretsystemen sein könnten.

Der Hypophysenvorderlappen ist keine geschlechtsspezifische Drüse. Durch vielseitige Versuche konnte gezeigt werden, daß auch beim männlichen Individuum eine ähnliche Abhängigkeit der Funktionen des Sexualapparates vom Vorderlappen besteht. Aus den interessanten Versuchen von *Aschheim* und *Zondek* (23), *Steinach* und *Kuhn* (24), *Fels* (25), *Boeters* (26), *Borst*, *Doederlein* und *Gostimirovic* (27) u. a. geht hervor, daß die Vorderlappenhormone auch auf die männlichen Sexualorgane eine fördernde Wirkung haben. Bei Säugetieren sind besonders die Veränderungen an den sekundären Geschlechtscharakteren, besonders der Samenblase, in die Augen springend, während die Veränderungen am Hoden selbst erst bei genauer histologischer Untersuchung der komplizierten Verhältnisse erkannt werden können. Bei Mäusen und Ratten zeigt sich nach Implantation von Vorderlappen eine starke Vergrößerung der infantilen Samenblase, während am Hoden als auffälligstes Symptom eine Vermehrung der Zwischenzellen festgestellt werden kann. Die Wirkung auf die Zwischenzellen ist aller Wahrscheinlichkeit nach dem Luteinisierungshormon zuzuschreiben; wenigstens konnte *Zondek* (28) mit Extrakten aus Harn, die nur Reifungshormon enthielten, eine Zwischenzellenwucherung nicht bewirken. Eine Reifung des Samenapparates konnte in einwandfreier Weise bisher nicht erzielt werden. Die meisten dieser Untersuchungen wurden mit den Hormonen, die aus Schwangerenharn gewonnen waren, angestellt. Es hat sich auch hier wieder gezeigt, daß zwischen den Harnhormonen und den aus der Drüse gewonnenen Hormonen deutliche Unterschiede bestehen, eine Ansicht, der sich in letzter Zeit eine immer größer werdende Zahl von Autoren anschließt [vgl. *Evans*, *Meyer* und *Simpson* (29), *Hill* und *Parkes* (30), *Leonard* (31), *Noguchi* (32), *Pompen*, *Dingemans* und *Kober* (33), *Reichert* und Mitarbeiter (34), *Schockaert* (35), *Wallen-Lawrence* und *van Dyke* (36)]. Besonders eindrucksvoll sind die Versuche von *Riddle* und Mitarbeitern (37) an Tauben. Er konnte an diesen Vögeln mit Vorderlappenpräparaten eine

außerordentlich starke Beschleunigung einer echten Hodenreifung beobachten, die unter starker Zunahme des Wachstums und des Gewichts der männlichen Keimdrüse (bis zu 100 % pro Tag) sich vollzieht und auch zu einer Beschleunigung der Reifung des Samenepithels bis zur vorzeitigen Spermiogenese führt. Wir konnten diese Versuche voll bestätigen und auch an infantilen Hähnen reproduzieren, was inzwischen auch von *Schockaert* (38) bestätigt wurde; er (39) hat diese Feststellungen an Enten ebenfalls gemacht.

Es ist auffallend, daß der aus Schwangerenharn gewonnene gonadotrope Wirkstoff trotz seiner unverkennbaren Wirkung auf das Ovar diese Reifungswirkung am Vogelhoden nicht besitzt. Gerade diese Unterschiede deuten darauf hin, daß das gonadotrope Hormon, welches mit dem Schwangerenharn ausgeschieden wird, nicht mit dem Drüsenhormon identisch ist. Wäre dies der Fall, so ist der Unterschied nicht recht verständlich. Man müßte dann neben einem die Ovarreifung bewirkenden, im Schwangerenharn und der Hypophyse vorkommenden Hormon noch einen weiteren, speziell auf die Hodenreifung wirkenden Stoff, der nur in der Hypophyse gebildet wird, annehmen. Dies würde aber der Definition von den gonadotropen Hormonen des Vorderlappens als den geschlechtsunspezifischen, den Sexualdrüsen übergeordneten Wirkstoffen widersprechen.

Es ist merkwürdig, daß bei dem Vorderlappen ein Prinzip der fehlenden Artspezifität, das sonst bei den übrigen Hormonen gilt, durchbrochen zu sein scheint. Das Vogelovar z. B. wird im Gegensatz zum Säugetierovar durch HVL-Hormon [*Zondek* (40)] und Vorderlappenextrakte [*Riddle* und *Fleming* (41)] nicht zur frühzeitigen Reife gebracht. *Walker* (42) und *Noether* (43) konnten zeigen, daß die Eilegetätigkeit der Hühner durch Vorderlappen-drüsen-Hormon gehemmt wird, während Harnextrakte wirkungslos sind. [Nach neueren Untersuchungen von *Noether* (44) dürfte diese Wirkung allerdings dem thyreotropen Hormon zuzuschreiben sein.] Auch bei Amphibien sind nach *Houssay* (45)

Vorderlappenhormono von Säugotieren wirkungslos, während arteigene Vorderlappenhormono vorzeitige Eiablage bewirken. Diese sehr bemerkenswerten Beobachtungen müssen noch eingehend studiert werden.

II. Das thyrootrope Hormon.

Weiterhin kann der Zusammenhang zwischen Hypophyse und Schilddrüse als bewiesen gelten. *Loeb* und Mitarbeiter (46) konnten zeigen, daß die ruhende Schilddrüse des Meerschweinchens unter der Einwirkung des Hypophysenvorderlappens zu gesteigerter Tätigkeit angeregt wird. Die weiteren Arbeiten von *Aron* (47), *Oehme*, *Paal* und *Kleine* (48) konnten diese Befunde bestätigen¹⁾. Auch an anderen Tierarten wurden solche Beobachtungen gemacht, so von *Janssen* und *Loeser* (49) am Hund, von *Schockaert* und *Foster* (50) an der Ente, von *Crew* und *Wiesner* (51), *Spaul* (52) sowie von *Uhlenhut* und *Schwartzbach* (53) am Axolotl. Aus diesen verschiedenartigsten Versuchen kann geschlossen werden, daß die Wirkung der Hypophysenvorderlappen-Substanz auf die Schilddrüse nicht artspezifisch ist. *Loeser* und Mitarbeitern (54) gelang der Nachweis, daß die Wirkung direkt auf das Schilddrüsengewebe erfolgt; sie konnten zeigen, daß diese Veränderungen auch an überlebenden Gewebestücken der Schilddrüse hervorgerufen werden können. *Verzar* und *Wahl* (55) wiesen am Meerschweinchen nach Hypophysenvorderlappen-Behandlung eine Steigerung des Grundumsatzes nach, die an das Vorhandensein der Schilddrüse gebunden war; ebenso läßt sich eine der Schilddrüsenwirkung gleichsinnige Gewichtsverminderung beim Meerschweinchen nach Darreichung von Hypophysenvorderlappen erzielen. Auch die Metamorphose am Axolotl deutet auf die Wirkung dieses Vorderlappenhormons über eine Steigerung der Schilddrüsenfunktion

¹⁾ *Oehme* arbeitete mit dem Reid-Hunt-Test. Nach neueren Untersuchungen *Oehmes* scheint die Identität des die Acetonitrilresistenz beeinflussenden Stoffes mit dem thyreotropen Stoff zweifelhaft zu sein.

hin. Es ergab sich die naheliegende Frage, ob diese Wirkung an der Schilddrüse an die übergeordneten Sexualhormone des Vorderlappens geknüpft ist, eine Vermutung, die um so näher liegt, als ja in der Schwangerschaft eine Überfunktion der Schilddrüse vorhanden ist, wie wir das besonders seit dem Nachweis eines erhöhten Schilddrüsen-Hormongehalts des Blutes bei Schwangeren durch *Anselmino* und *Hoffmann* (56) sowie *Eufinger* (57) wissen, oder ob diese Schilddrüsenwirkung einem weiteren Hormon des Vorderlappens zuzuweisen ist. Diese Frage wurde durch die Untersuchungen einer Reihe von Forschern zugunsten eines weiteren Hormons, des sogenannten thyreotropen Hormons, entschieden. *Aron* und *Klein* (58) fanden, daß Harn von schwangeren Frauen trotz seines hohen Gehalts an ovariell wirksamer Substanz nicht wirksamer ist als Harn von Männern und nichtschwangeren Frauen. Dementsprechend fehlt nach *Klein* (59) auch der Placenta die Wirksamkeit an der Schilddrüse. *Crew* und *Wiesner* (60) wiesen nach, daß Hypophysenvorderlappen-Extrakte durch Erhitzen ihre Wirksamkeit auf die Keimdrüsen verlieren, nicht aber ihre Wirksamkeit auf die Schilddrüse.

Aus diesen Versuchen kann mit Sicherheit geschlossen werden, daß der Vorderlappen auch auf die Schilddrüse eine zentrale regulierende Funktion ausübt. Diese kommt einem dritten Hormon zu, das auch bereits von den übrigen Wirkstoffen des Hypophysenvorderlappens abgetrennt werden konnte¹⁾ [*Schoeller* und *Junkmann* (62)]. Eigentümlicherweise findet man in den Schilddrüsen von Tieren, welche mit thyreotropem Hormon behandelt wurden, eine bedeutende Abnahme des Kolloidgehalts, also eine Kolloidausschwemmung und nach *Loeser* (63) einen stark verminderten Jodgehalt. Solche Verhältnisse findet man auch bei Krankheitsformen, die man unter den Begriff des Hyperthyreoidismus stellt, z. B. den Morbus Basedow. Möglicherweise ist die

¹⁾ *Paal* (61) hat für dieses den Namen „Hormothyrin“ vorgeschlagen.

Vorderlappenhormone von Säugetieren wirkungslos, während arteigene Vorderlappenhormone vorzeitige Eiablage bewirken. Diese sehr bemerkenswerten Beobachtungen müssen noch eingehend studiert werden.

II. Das thyreotropo Hormon.

Weiterhin kann der Zusammenhang zwischen Hypophyse und Schilddrüse als bewiesen gelten. *Loeb* und Mitarbeiter (46) konnten zeigen, daß die ruhende Schilddrüse des Meerschweinchens unter der Einwirkung des Hypophysenvorderlappens zu gesteigerter Tätigkeit angeregt wird. Die weiteren Arbeiten von *Aron* (47), *Oehme*, *Paal* und *Kleine* (48) konnten diese Befunde bestätigen¹⁾. Auch an anderen Tierarten wurden solche Beobachtungen gemacht, so von *Janssen* und *Loeser* (49) am Hund, von *Schockaert* und *Foster* (50) an der Ente, von *Crew* und *Wiesner* (51), *Spaul* (52) sowie von *Uhlenhuth* und *Schwartzbach* (53) am Axolotl. Aus diesen verschiedenartigsten Versuchen kann geschlossen werden, daß die Wirkung der Hypophysenvorderlappen-Substanz auf die Schilddrüse nicht artspezifisch ist. *Loeser* und Mitarbeitern (54) gelang der Nachweis, daß die Wirkung direkt auf das Schilddrüsengewebe erfolgt; sie konnten zeigen, daß diese Veränderungen auch an überlebenden Gewebestücken der Schilddrüse hervorgerufen werden können. *Verzar* und *Wahl* (55) wiesen am Meerschweinchen nach Hypophysenvorderlappen-Behandlung eine Steigerung des Grundumsatzes nach, die an das Vorhandensein der Schilddrüse gebunden war; ebenso läßt sich eine der Schilddrüsenwirkung gleichsinnige Gewichtsverminderung beim Meerschweinchen nach Darreichung von Hypophysenvorderlappen erzielen. Auch die Metamorphose am Axolotl deutet auf die Wirkung dieses Vorderlappenhormons über eine Steigerung der Schilddrüsenfunktion

¹⁾ *Oehme* arbeitete mit dem Reid-Hunt-Test. Nach neueren Untersuchungen *Oehmes* scheint die Identität des die Acetonitrilresistenz beeinflussenden Stoffes mit dem thyreotropen Stoff zweifelhaft zu sein.

den durch die Hypophysenexstirpation unterdrückten Diabetes wieder in Erscheinung bringen.

Ferner konnte *Houssay* zeigen, daß hypophysenlose Hunde gegen Insulin wesentlich empfindlicher sind und im Hungerzustand leicht hypoglykämischer Schock eintritt. Auch von anderen Autoren [*Cowley* (70), *Lucke* und Mitarbeitern (71)] wurden gleichsinnige Beobachtungen gemacht; vor kurzem hat *Cushing* (72) beim Menschen als eigenes Syndrom mit Glykosurie und Nebennierenhypertrophie verlaufende basophile Tumoren der Hypophyse beschrieben. Der Mechanismus dieser Wirkung auf den Kohlenhydrathanshalt ist noch nicht genau zu erklären. Es ist aber durch die bisherigen Versuche sehr wahrscheinlich gemacht, daß diese Erscheinung als sekundäre Folge einer Einwirkung des Hypophysenvorderlappens auf die Nebenniere aufzufassen ist, wofür auch folgende Tatsachen zu sprechen scheinen:

Die Akromegalie ist mit einer Hypertrophie der Nebennierenrinde verknüpft [*Cushing* (73)]; auch *Kraus* (74) nimmt nach seinen morphologischen Studien einen Zusammenhang zwischen den basophilen Zellen und der Nebennierenrinde an. Bemerkenswert ist, daß *Chianka* (75) unter Vorderlappenwirkung eine Glykogenvermehrung in der Leber fand, ein Befund, den *Britton* und *Silvette* (76) auch mit ihren wirksamen Nebennierenrindeextrakten erbeben konnten. Die hypophysäre Kachexie zeigt in ihrem Krankheitsbild viele Ähnlichkeiten mit dem Morbus Addison. Besonders auffallend sind die Beobachtungen von *Schellong* (77) über die große Labilität des Kreislaufes bei larvierten Formen von *Simmondseher* Krankheit, die wohl auch als Nebenniereninsuffizienz aufzufassen sind [vgl. auch *Lichtwitz* (78) sowie *Steinitz* und *Thau* (79)].

Schließlich ist es in neuester Zeit *Collip* und Mitarbeitern (80) gelungen, den endgültigen Beweis für das Vorkommen eines derartigen, die Funktion der Nebenniere kontrollierenden Hormons zu erbringen, für das sie den Namen „adrenotropes Hormon“ wählen, während *J. Bauer* (80a) schon früher den gleichbedeu-

Basedow-Erkrankung auf eine hypophysäre Genese, also eine vermehrte Bildung von thyreotropem Hormon, verbunden mit einer erhöhten Ausschwemmung desselben, zurückzuführen.

III. Das interrenotrope Hormon.

Noch weitere Stoffwechselvorgänge unterliegen anscheinend der Kontrolle des Hypophysenvorderlappens. Nach neueren Versuchen bestehen auch Zusammenhänge zwischen dem Vorderlappen und dem Kohlenhydrathaushalt. Schon früher hat man die häufige Beobachtung gemacht, daß die Akromegalie mit Glykosurie verknüpft ist [*Cushing* und *Davidoff* (64), *Goetsch*, *Cushing* und *Jacobson* (65)]. *Borchardt* (66) beobachtete bei 71 von 76 Fällen von Akromegalie Zuckerausscheidung im Harn. Ebenso ist schon lange bekannt, daß in der Schwangerschaft Glykosurie kein seltenes Vorkommnis ist, und welche Bedeutung gerade dem Vorderlappen in der Schwangerschaft zukommt, ist ja durch eingehende Untersuchungen genügend bekannt. *Johns* (67) und Mitarbeiter haben bereits vor längerer Zeit durch Injektion von Vorderlappenextrakten Hyperglykämie, Glykosurie und Polyurie, die Kardinalsymptome eines Diabetes, hervorrufen können. Als Ursache für diese Erscheinungen machen sie eine erhöhte Glykogenolyse in der Leber und eine vermehrte Durchlässigkeit der Nieren für Zucker verantwortlich. Andere Autoren suchten die Störung in Zentren des Hypothalamus; von anderen wieder wurde ein Antagonismus zwischen Insulin und den Hormonen des Hinterlappens angenommen. Erst die grundlegenden Arbeiten von *Houssay* und seinen Mitarbeitern (68) wiesen einwandfrei auf den Zusammenhang zwischen dem Vorderlappen und der Blutzuckerregulation hin. *Houssay* und *Biasotti* (69) exstirpierten Kröten die Pankreasdrüse, worauf — wie auch zu erwarten war — Diabetes mit starker Zuckerausscheidung im Harn auftrat; als jedoch gleichzeitig der Hypophysenvorderlappen entfernt wurde, blieb der Diabetes aus. Wenn sie solchen Tieren hierauf Vorderlappenextrakt injizierten, so konnten sie

den durch die Hypophysenexstirpation unterdrückten Diabetes wieder in Erscheinung bringen.

Ferner konnte *Houssay* zeigen, daß hypophysenlose Hunde gegen Insulin wesentlich empfindlicher sind und im Hungerzustand leicht hypoglykämischer Schock eintritt. Auch von anderen Autoren [*Cowley* (70), *Lucke* und Mitarbeitern (71)] wurden gleichsinnige Beobachtungen gemacht; vor kurzem hat *Cushing* (72) beim Menschen als eigenes Syndrom mit Glykosurie und Nebennierenhypertrophie verlaufende basophile Tumoren der Hypophyse beschrieben. Der Mechanismus dieser Wirkung auf den Kohlenhydrathaushalt ist noch nicht genau zu erklären. Es ist aber durch die bisherigen Versuche sehr wahrscheinlich gemacht, daß diese Erscheinung als sekundäre Folge einer Einwirkung des Hypophysenvorderlappens auf die Nebenniere aufzufassen ist, wofür auch folgende Tatsachen zu sprechen scheinen:

Die Akromegalie ist mit einer Hypertrophie der Nebennierenrinde verknüpft [*Cushing* (73)]; auch *Kraus* (74) nimmt nach seinen morphologischen Studien einen Zusammenhang zwischen den basophilen Zellen und der Nebennierenrinde an. Bemerkenswert ist, daß *Chianka* (75) unter Vorderlappenwirkung eine Glykogenvermehrung in der Leber fand, ein Befund, den *Britton* und *Silvette* (76) auch mit ihren wirksamen Nebennierenrindeextrakten erheben konnten. Die hypophysäre Kachexie zeigt in ihrem Krankheitsbild viele Ähnlichkeiten mit dem Morbus Addison. Besonders auffallend sind die Beobachtungen von *Schellong* (77) über die große Labilität des Kreislaufes bei larvierten Formen von *Simmondscher* Krankheit, die wohl auch als Nebenniereninsuffizienz aufzufassen sind [vgl. auch *Lichtwitz* (78) sowie *Steinitz* und *Thau* (79)].

Schließlich ist es in neuester Zeit *Collip* und Mitarbeitern (80) gelungen, den endgültigen Beweis für das Vorkommen eines derartigen, die Funktion der Nebenniere kontrollierenden Hormons zu erbringen, für das sie den Namen „adrenotropes Hormon“ wählen, während *J. Bauer* (80a) schon früher den gleichbedeu-

Basedow-Erkrankung auf eine hypophysäre Genese, also eine vermehrte Bildung von thyreotropem Hormon, verbunden mit einer erhöhten Ausschwemmung desselben, zurückzuführen.

III. Das interrontrope Hormon.

Noch weitere Stoffwechselvorgänge unterliegen anscheinend der Kontrolle des Hypophysenvorderlappens. Nach neueren Versuchen bestehen auch Zusammenhänge zwischen dem Vorderlappen und dem Kohlenhydrathanshalt. Schon früher hat man die häufige Beobachtung gemacht, daß die Akromegalie mit Glykosurie verknüpft ist [*Cushing* und *Davidoff* (64), *Goetsch*, *Cushing* und *Jacobson* (65)]. *Borchardt* (66) beobachtete bei 71 von 76 Fällen von Akromegalie Zuckerausscheidung im Harn. Ebenso ist schon lange bekannt, daß in der Schwangerschaft Glykosurie kein seltenes Vorkommnis ist, und welche Bedeutung gerade dem Vorderlappen in der Schwangerschaft zukommt, ist ja durch eingehende Untersuchungen genügend bekannt. *Johns* (67) und Mitarbeiter haben bereits vor längerer Zeit durch Injektion von Vorderlappenextrakten Hyperglykämie, Glykosurie und Polyurie, die Kardinalsymptome eines Diabetes, hervorrufen können. Als Ursache für diese Erscheinungen machen sie eine erhöhte Glykogenolyse in der Leber und eine vermehrte Durchlässigkeit der Nieren für Zucker verantwortlich. Andere Autoren suchten die Störung in Zentren des Hypothalamus; von anderen wieder wurde ein Antagonismus zwischen Insulin und den Hormonen des Hinterlappens angenommen. Erst die grundlegenden Arbeiten von *Houssay* und seinen Mitarbeitern (68) wiesen einwandfrei auf den Zusammenhang zwischen dem Vorderlappen und der Blutzuckerregulation hin. *Houssay* und *Biasotti* (69) exstirpierten Kröten die Pankreasdrüse, worauf — wie auch zu erwarten war — Diabetes mit starker Zuckerausscheidung im Harn auftrat; als jedoch gleichzeitig der Hypophysenvorderlappen entfernt wurde, blieb der Diabetes aus. Wenn sie solchen Tieren hierauf Vorderlappenextrakt injizierten, so konnten sie

konnten durch parenterale Zufuhr von Hypophysenvorderlappen-Extrakt künstlichen Riesenwuchs erzeugen. Diese Wachstumssteigerung ist nicht nur eine reine Gewichtszunahme, die ja auch auf einer erhöhten Wasserretention beruhen könnte; es ist dabei auch gleichzeitig vermehrtes Längenwachstum, vor allem des Skeletts, festzustellen, wobei auch die inneren Organe gleichmäßig vergrößert sind. Bei Kalthütern, z. B. beim Axolotl, kann man Riesenwuchs auch durch Verfütterung von frischer Vorderlappensubstanz erzielen [Uhlenhuth (82)]. Nach den bisherigen tierexperimentellen Versuchen ist sichergestellt, daß die in der menschlichen Pathologie beschriebenen Wachstumsstörungen mit einer Dysfunktion der Hypophyse, speziell dem in ihr enthaltenen Wachstumshormon, zusammenhängen. Nach Brissaud und Meigs (83) ist dabei zu unterscheiden, ob eine Hyperfunktion der Drüse noch zu einer Zeit eintritt, in der die Epiphysen noch nicht geschlossen sind. In diesen Fällen kommt es durch ein allgemeines proportioniertes Längenwachstum durch Interposition zu dem bekannten Bild des echten Riesenwuchses. Nach abgeschlossenem Wachstum oder nach Abschluß des normalen Längenwachstums tritt dagegen bei Überproduktion von Wachstumshormon nur mehr eine Vergrößerung der Körperspitzen (Finger, Zehen, Nase usw.) ein und es kommt zu dem bekannten Krankheitsbild der Akromegalie, einem Wachstum durch Apposition. Das hypophysäre Bild des Zwergwuchses ist im Tierversuch noch nicht einwandfrei experimentell erwiesen, da die Exstirpation der Hypophyse sehr bald zu hypophysärer Kachexie führt. Es ist aber mit Sicherheit anzunehmen, daß der hypophysäre Zwergwuchs auf eine Dystrophie des Vorderlappens zurückzuführen ist, ebenso wie das Entstehen gewisser Zwergrassen im Tierreich auf hypophysärer Genese beruhen dürfte. Diese Wirkung des Wuchsstoffes, wie wir sie bei den Hypophysenvorderlappen-Versuchen beobachteten, hat nichts mit dem von Went (84) aufgefundenen und von Kögl (85) isolierten Wuchsstoff aus den Pflanzen (Auxin) zu

tenden Ausdruck „interrenotropes Hormon“ gebrauchte. Es gelang ihnen, die bei hypophysektomierten Ratten auftretende Atrophie der Nebennieren (und zwar in der Hauptsache des Rindenanteils) durch Injektionen von Hypophysenextrakten wieder zur Norm zurückzuführen. Sie konnten auch den Nachweis erbringen, daß es sich dabei um ein neues Hormon des Vorderlappens handelt, das mit keinem der bisher bekannten adenotropen Stoffe identisch ist.

IV. Das pankreotrope Hormon.

Ebenfalls in allerjüngster Zeit ist es *Anselmino, Herold* und *Hoffmann* (80h) gelungen, die Existenz eines weiteren Hormons wahrscheinlich zu machen, das in seiner Eigenschaft, die Tätigkeit des insulinären Apparates zu kontrollieren, als der Gegenspieler des interrenotropen Hormons anzusehen ist. Seine Wirkung besteht „in einer Vergrößerung der Inseln mit einer Verschmelzung einzelner Inselkomplexe und einem vermehrten Auftreten von jungen neugebildeten Inseln“.

Die Frage, ob es sich bei dieser auf das Pankreas gerichteten Wirkung tatsächlich um ein neues Hormon handelt oder ob sie vielleicht einem der bekannten adenotropen Hormone zuzuweisen ist, wird von den Autoren zunächst noch offen gelassen.

V. Das Wachstumshormon.

Neben seinen Funktionen, auf einzelne endokrine Drüsen einen tiefgreifenden Einfluß auszuüben, beherrscht der Hypophysenvorderlappen auch die Gesamtentwicklung des Individuums als echte Wachstumsdrüse. Diese Beobachtung auf das Körperwachstum, wie dies z. B. sich klinisch in den Bildern des Riesenwuchses und der Akromegalie äußert, war die erste Eigenschaft, die man im Hypophysenvorderlappen entdeckte. *Evans* und *Long* (81) haben diesen Einfluß auf das Körperwachstum, den sie mit Sicherheit auf den Vorderlappen zurückführen, zum ersten Male im Tierversuch experimentell nachgeprüft und

tums sich stark zurückbildet, eine wesentliche Rolle hierbei zukommt.

Mit dem Wachstumshormon könnten vielleicht die Beziehungen zwischen malignen Tumoren und Vorderlappen zusammenhängen. An hypophysektomierten Ratten wurde ein langsames Wachstum transplanterter Tumoren beobachtet [Ball und Mitarbeiter (88), Reiss (89)], während in der Schwangerschaft wiederholt ein rascheres Wachstum maligner Tumoren beobachtet wurde [Wagner (90)]. Bemerkenswert ist hier auch die reichliche Ausscheidung von Reifungshormon (HVL-Hormon A) bei Tumoren, speziell der Sexualorgane [Zondek (91)]. Vielleicht liegt hier auch eine Erklärung für das Auftreten maligner Tumoren meist im höheren Lebensalter, wo die Hemmung der Hypophyse durch die Sexualhormone (siehe weiter unten) wegfällt.

VI. Andere hormonale Funktionen des Hypophysenvorderlappens.

Mit den vorangehend geschilderten Wirkstoffen ist der Einfluß des Vorderlappens auf das Gesehehen im Organismus wohl noch nicht erschöpft. Eine Reihe anderer Funktionen des Hypophysenvorderlappens, die mit den bisher beschriebenen Hormonen nicht zusammenhängen dürften, deren Mechanismus aber noch völlig ungeklärt ist, sind in der Literatur beschrieben worden.

Unter den Stoffwechselwirkungen, deren näherer Mechanismus noch ungeklärt ist, wäre vor allem der Einfluß des Vorderlappens auf den Fettstoffwechsel zu erwähnen. Nach Anselmino und Hoffmann (92) tritt unter der Wirkung von Vorderlappenpräparaten bei Ratten eine beträchtliche Steigerung der Acetonkörper im Blute auf, ein Befund, der von Magistris (93) auch an Kaninchen bestätigt werden konnte. Mit der Tätigkeit der Schilddrüse und daher auch mit dem thyreotropen Hormon soll bei dieser Wirkung kein Zusammenhang bestehen.

tun. In eigenen Versuchen hat *Kögl* gezeigt, daß das Anxin am Tier wirkungslos ist.

Auch experimentell-chemisch wurde das Wachstumshormon des Vorderlappens zuerst bearbeitet. Wegen seiner großen Labilität sind die Untersuchungen bzw. die Reindarstellung noch nicht weit fortgeschritten. Bisher läßt sich sagen, daß das Wachstumshormon die Eigenschaften eines recht empfindlichen Eiweißkörpers besitzt. Alle Eingriffe, von denen man weiß, daß durch sie Eiweißkörper irreversibel verändert werden, zerstören auch das Wachstumshormon. Es ist noch bisher noch nichts darüber zu sagen, ob sich das Wachstumshormon getrennt von allen übrigen Wirkstoffen der Hypophyse darstellen läßt. Diesbezügliche Versuche, welche von *van Dyke* und *Wallen-Lawrence* (86) durchgeführt wurden, sind nicht sicher entscheidend, da diese Autoren als Kriterium für die Wirksamkeit ihrer aufgearbeiteten, Wachstumshormon enthaltenden Extrakte nur die Gewichtskurve in relativ kurzfristigen Versuchen in Betracht gezogen haben, bei denen daher eine einfache Wasserretention eine echte Wachstumswirkung vortäuschen konnte. Es besteht immerhin die Möglichkeit, daß, ähnlich wie dies *Abel* für das Hormon des Hinterlappens annimmt, das Wachstumshormon den gesamten Hormonkomplex des Hypophysenvorderlappens darstellt, von dem die einzelnen „glandotropen“ Hormone nur Bruchstücke wären. Besonders wahrscheinlich ist dieser Zusammenhang bei den gonadotropen Hormonen. Anhaltspunkte für diese Auffassung gehen die klinischen Beobachtungen bei Akromegalie und während der Schwangerschaft. Auch *Evans* (87) zieht auf Grund von Tierversuchen eine solche Möglichkeit in Betracht.

Wie der Mechanismus des Wachstumshormons zu erklären ist, kann man heute noch nicht sagen, vor allem noch nicht, ob in ihm eine hormonale Zwischenstelle eingeschaltet ist, wie dies bei den Geschlechtsdrüsen und der Schilddrüse eindeutig erwiesen ist. Man könnte vielleicht daran denken, daß der Thymusdrüse, die ja nach Abschluß des Wachs-

der von ihm gesteuerten Drüsen anpaßt und daß auch rückwirkend die Erfolgsorgane auf die Zentralstelle wirken. Für die gonadotropen Hormone scheint ein derartiges reziprokes Verhältnis zu bestehen, und zwar in dem Sinne, daß ein Fehlen der sekundären Geschlechtshormone die Produktion des betreffenden übergeordneten Hypophysenvorderlappen-Hormons begünstigt, übergroße Produktion oder künstliche Zufuhr aber hemmt. So ist z. B. bekannt, daß nach Kastration oder im Klimakterium große Mengen Reifungshormon im Harn ausgeschieden werden. Im Hypophysenvorderlappen von kastrierten Tieren lassen sich Kastrationszellen nachweisen; der Hormongehalt solcher Drüsen ist erhöht, wie *Evans* (100), *Engle* (101) und *Zondek* (102) festgestellt haben. Durch Zufuhr der sekundären Sexualhormone wird die Produktion des Reifungshormons in der Hypophyse gehemmt; es kommt nicht mehr zur Eireifung und folglich zu einer vorübergehenden Sterilität. Auch die antimaskuline Wirkung des Follikulins besteht wahrscheinlich nicht in einer direkten Schädigung der Hoden, sondern in einer Hemmung der Hormonproduktion im Hypophysenvorderlappen [*Lendle* (103), *Ihrke* und *d'Amour* (104)]. Diese wechselseitigen Korrelationen zwischen Hypophyse und Geschlechtsdrüsen dürften wesentlich für den Mechanismus sexueller Zyklusvorgänge sein. *Aron* und Mitarbeiter (105) fanden, daß in Blut und Harn schilddrüsenloser Tiere der Gehalt an thyreotropem Hormon erhöht ist und umgekehrt.

Auch bezüglich des Wachstumshormons scheint die Hypophyse ihrerseits wieder in der Peripherie gewissen Einflüssen zu unterliegen. *Evans* hat darauf hingewiesen, daß die sekundären Geschlechtshormone einen hemmenden Einfluß auf die Produktion des Wachstumshormons haben; bald nach Eintritt der vollen Geschlechtsreife beginnt das weitere Wachstum zu sistieren. Kastraten zeigen häufig ein stärkeres Wachstum; das geringere Größenwachstum der Südrassen könnte auf die frühe Geschlechtsreife zurückgeführt werden. Die Versuche von *Hohlweg* und *Junkmann* (106) machen es wahrscheinlich, daß noch ein

Von *Agnoli* (94) wurde beobachtet, daß unter der Wirkung von Vorderlappenpräparaten die Desaminierung von Aminosäuren im Blute rascher verläuft. Vielleicht steht damit die Beobachtung von *Braier* (95) im Zusammenhang, daß hypophysektomierte Hunde im Hungerzustand wesentlich weniger Stickstoff im Harn ausscheiden als normale Hunde. Daß der Vorderlappen einen Einfluß auf den Eiweißstoffwechsel, speziell bei der Desaminierung der Eiweißkörper hat, geht ja auch aus dem Zusammenhang zwischen Hypophyse und spezifisch dynamischer Eiweißwirkung hervor.

Ob diese Stoffwechselwirkungen unter der direkten Kontrolle des Vorderlappens stehen oder ob auch hier eine andere endokrine Drüse noch zwischengeschaltet ist, ob sie einem der bekannten „adenotropen“ Hormone zuzuteilen ist oder ob hier besondere Wirkstoffe vorliegen, darüber könnten nach den bisherigen Kenntnissen nur spekulative Hypothesen aufgestellt werden, die ohne entsprechende experimentelle Grundlagen höchstens den Wert von mehr oder weniger zweifelhaften Arbeitshypothesen haben können.

Auch die Funktion der Milchdrüsen dürfte von einem Vorderlappenhormon gesteuert werden. Möglicherweise ist ein solches Hormon von den gonadotropen Hormonen abtrennbar [*Grüter und Stricker* (96), *Nelson und Pfiffner* (97), *Corner* (98)]. Diese Wirkung des Vorderlappens ist besonders gut an der ein milchähnliches Sekret absondernden Kropfdrüse von Tauben zu beobachten [*Riddle und Braucher* (99)]. Bei Säugetieren ist die Frage, ob eine vorbereitende Wirkung der Sexualhormone (Follikelhormon, Corpus-luteum-Hormon) für die Sekretion der Milchdrüse vorangehen muß, noch nicht entschieden.

Für eine geordnete Funktion der zentralen hormonalen Steuerung in der Hypophyse ist es erforderlich, daß dieses Organ selbst wieder seine Tätigkeit dem vorhandenen Hormonspiegel

der von ihm gesteuerten Drüsen anpaßt und daß auch rückwirkend die Erfolgsorgane auf die Zentralstelle wirken. Für die gonadotropen Hormone scheint ein derartiges reziprokes Verhältnis zu bestehen, und zwar in dem Sinne, daß ein Fehlen der sekundären Geschlechtshormone die Produktion des betreffenden übergeordneten Hypophysenvorderlappen-Hormons begünstigt, übergroße Produktion oder künstliche Zufuhr aber hemmt. So ist z. B. bekannt, daß nach Kastration oder im Klimakterium große Mengen Reifungshormon im Harn ausgeschieden werden. Im Hypophysenvorderlappen von kastrierten Tieren lassen sich Kastrationszellen nachweisen; der Hormongehalt solcher Drüsen ist erhöht, wie *Evans* (100), *Engle* (101) und *Zondek* (102) festgestellt haben. Durch Zufuhr der sekundären Sexualhormone wird die Produktion des Reifungshormons in der Hypophyse gehemmt; es kommt nicht mehr zur Eireifung und folglich zu einer vorübergehenden Sterilität. Auch die antimaskuline Wirkung des Follikulins besteht wahrscheinlich nicht in einer direkten Schädigung der Hoden, sondern in einer Hemmung der Hormonproduktion im Hypophysenvorderlappen [*Lendle* (103), *Ihrke* und *d'Amour* (104)]. Diese wechselseitigen Korrelationen zwischen Hypophyse und Geschlechtsdrüsen dürften wesentlich für den Mechanismus sexueller Zyklusvorgänge sein. *Aron* und Mitarbeiter (105) fanden, daß in Blut und Harn schilddrüsenloser Tiere der Gehalt an thyreotropem Hormon erhöht ist und umgekehrt.

Auch bezüglich des Wachstumshormons scheint die Hypophyse ihrerseits wieder in der Peripherie gewissen Einflüssen zu unterliegen. *Evans* hat darauf hingewiesen, daß die sekundären Geschlechtshormone einen hemmenden Einfluß auf die Produktion des Wachstumshormons haben; bald nach Eintritt der vollen Geschlechtsreife beginnt das weitere Wachstum zu sistieren. Kastraten zeigen häufig ein stärkeres Wachstum; das geringere Größenwachstum der Südrassen könnte auf die frühe Geschlechtsreife zurückgeführt werden. Die Versuche von *Hohlweg* und *Junkmann* (106) machen es wahrscheinlich, daß noch ein

nervöses Zentrum zwischen den übergeordneten Motor und die Erfolgsorgano geschaltet ist.

Die vielseitigen und genial angelegten Untersuchungen, deren Ergebnisse ich kurz zusammengestellt habe, haben dargestellt, daß in der Hypophyse, speziell im Vorderlappen, ein übergeordneter Motor für verschiedene innersekretorische Drüsen zu erblicken ist. Schon lange wissen wir, daß der Organismus sich zur Regulierung seiner Funktionen eines weit verzweigten und fein ausgeglichenen Systems autonomer, den Willenseinflüssen entzogener Nervenbahnen bedient und kennen bereits seit langer Zeit solche für die nervöse Regulation bestehende nervöse Zentren, deren Funktionen weitgehend erforscht sind. Ebenso wie bei dieser Neuroregulation die peripheren Nerven der Befehlsgewalt der nervösen Zentren unterstehen, können wir annehmen, daß auch für die peripheren endokrinen Drüsen eine Zentralstelle existiert, die ihre Befehle aber nicht auf dem Wege über Nervenbahnen, sondern auf hormonalem Wege übermittelt. Nach den bisherigen Untersuchungen hat es den Anschein, als wäre im Vorderlappen der Hypophyse ein solches hormonales Zentralorgan zu erblicken, das auf humoralem Wege weitgehend die Tätigkeit anderer peripherer endokriner Drüsen beeinflußt.

Literatur

- (1) B.Zondek, Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gyn. 90, 378.
- (2) Ph.E.Smith, Proc. Soc. exp. Biol. u. Med. 24, 131.
- (3) Fee und Parkes, Journ. phys. 67, 383.
- (4) Friedmann, Am. Journ. phys. 89, 438; 90, 017.
- (5) Philipp, Zentralbl. f. Gyn. 1931, 12.
- (6) Leonard, Am. Journ. phys. 98, 406.
- (7) Corner und Allen, Am. Journ. phys. 88, 326.
- (8) Allen, Am. Journ. phys. 92, 612.
- (9) Waldstein, Zentralbl. f. Gyn. 1929, Nr. 21. S. 1305.
- (10) Mayoudis, Zentralbl. f. Gyn. 1933, 1580.
- (11) Aschheim und Zondek, Klin. Wschr. 1928, Nr. 30. S. 1404.
- (12) Aschheim, Zeitschr. ärztl. Fortb. 1929, 5.
- (13) Philipp, Zentralbl. f. Gyn. 1930, 450.
- (14) Aschheim, Med. Welt 1930, 459.
- (15) Hill und Parkes, Proc. Roy. Soc. Serie B, 107, 455.
- (16) Reiss, Selye und Balint, Endokrin. 8, 259.

- (17) *Fevold, Hisaw und Leonard*, Am. Journ. phys. 97, 291.
- (18) *Wiesner und Crew*, Quart. Journ. exp. Phys. 21, 147.
- (19) *Aschheim und Zondek*, l. c.
- (20) *Zondek*, Klin. Wschr. 1930, 393.
- (21) *Fevold, Hisaw und Leonard*, l. c.
- (22) *Fevold, Hisaw, Hellbaum und Hertz*, Am. Journ. phys. 104, 710.
- (23) *Aschheim und Zondek*, l. c.
- (24) *Steinach und Kuhn*, Med. Klinik 1928, 524.
- (25) *Fels*, Arch. f. Gyn. 182.
- (26) *Boeters*, D. med. Wschr. 1930, 1382.
- (27) *Borst, Doederlein und Gostimirovic*, M. med. Wschr. 1930, 473.
- (28) *Zondek*, Die Hormone des Ovariums usw. Berlin 1931, S. 168.
- (29) *Evans, Meyer und Simpson*, Am. Journ. phys. 100, 141.
- (30) *Hill und Parkes*, Journ. phys. 71, 36.
- (31) *Leonard*, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 29, 812.
- (32) *Noguchi*, Ber. ges. Phys. 65, 298.
- (33) *Pompen, Dingemanse und Kober*, Endokrin. 12, 479.
- (34) *Reichert, Peucharz, Simpson, Meyer und Evans*, Am. Journ. phys. 100, 157.
- (35) *Schockaert*, Compt. rend. soc. biol. 112, 733.
- (36) *Wallen-Lawrence und van Dyke*, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 28, 956.
Journ. pharm. exp. Therap. 43, 93.
- (37) *Riddle und Polhemus*, Am. Journ. phys. 98, 121.
- (38) *Schockaert*, Compt. rend. soc. biol. 111, 1095.
- (39) *Schockaert*, Anat. Rec. 50, 381; Compt. rend. soc. biol. 108, 420.
- (40) *Zondek*, Die Hormone des Ovariums usw. Berlin 1931, S. 169.
- (41) *Riddle und Flemion*, Am. Journ. phys. 87, 110.
- (42) *Walker*, Am. Journ. phys. 74, 249.
- (43) *Noether*, Arch. exp. Path. u. Pharm. 160, 369.
- (44) *Noether*, Klin. Wschr. 1932, 1702.
- (45) *Houssay und Mitarbeiter*, Compt. rend. soc. biol. 102, 864.
- (46) *Loeb*, Klin. Wschr. 1932, 2121, 2156. (Zusammenfassendes Referat.)
- (47) *Aron*, Compt. rend. soc. biol. 102, 682.
- (48) *Oehme, Paal und Klein*, Arch. exp. Path. u. Pharm. 171, 54.
- (49) *Janssen und Loeser*, Arch. exp. Path. u. Pharm. 163, 517. Klin. Wschr. 1931, 2046.
- (50) *Schockaert und Foster*, Journ. biol. Chem. 95, 93.
- (51) *Crew und Wiesner*, Ber. ges. Phys. 58, 346.
- (52) *Spaul*, Brit. Journ. exp. Biol. 2, 33.
- (53) *Uhlenhuth und Schwartzbach*, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 26, 149, 152.
- (54) *Eitel, Krebs und Loeser*, Klin. Wschr. 1933, 616.
- (55) *Verzar und Wahl*, Bioch. Zeitschr. 240, 37.
- (56) *Anselmino und Hoffmann*, Arch. f. Gyn. 145, 104, 114.
- (57) *Eufinger, Wiesbader und Focsaneanu*, Arch. f. Gyn. 126, 12.
- (58) *Aron und Klein*, Compt. rend. soc. biol. 103, 792.
- (59) *Klein*, Compt. rend. soc. biol. 102, 1070.
- (60) *Crew und Wiesner*, l. c.
- (61) *Paal*, Klin. Wschr. 1931, 2172.

nervöses Zentrum zwischen den übergeordneten Motor und die Erfolgsorgane geschaltet ist.

Dio vielseitigen und genial angelegten Untersuchungen, deren Ergebnisse ich kurz zusammengestellt habe, haben dar-
getan, daß in der Hypophyse, speziell im Vorderlappen, ein übergeordneter Motor für verschiedene innersekretorische Drüsen zu erblicken ist. Schon lango wissen wir, daß der Organismus sich zur Regulierung seiner Funktionen eines weit verzweigten und fein ausgeglichenen Systems autonomer, den Willenseinflüssen entzogener Nervenbahnen bedient und kennen bereits seit langer Zeit solehe für die nervöso Regulation bestehende nervöse Zentren, deren Funktionen weitgehend erforscht sind. Ebenso wie bei dieser Neuroregulation dio peripheren Nerven der Befehlsgewalt der nervösen Zentren unterstehen, können wir annehmen, daß auch für die peripheren endokrinen Drüsen eine Zentralstelle existiert, dio ihre Befehle aber nicht auf dem Wege über Nervenbahnen, sondern auf hormonalem Wege übermittelt. Nach den bisherigen Untersuchungen hat es don Anschein, als wäre im Vorderlappen der Hypophyse ein solehes hormonales Zentralorgan zu erblicken, das auf humoralem Wege weitgehend die Tätigkeit anderer peripherer endokriner Drüsen beeinflußt.

Literatur

- (1) B.Zondek, Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gyn. 90, 378.
- (2) Ph.E.Smith, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 24, 131.
- (3) Fee und Parkes, Journ. phys. 67, 383.
- (4) Friedmann, Am. Journ. phys. 89, 438; 90, 617.
- (5) Philipp, Zentralbl. f. Gyn. 1931, 12.
- (6) Leonard, Am. Journ. phys. 98, 406.
- (7) Corner und Allen, Am. Journ. phys. 88, 326.
- (8) Allen, Am. Journ. phys. 92, 612.
- (9) Waldstein, Zentralbl. f. Gyn. 1929, Nr. 21. S. 1305.
- (10) Maroudis, Zentralbl. f. Gyn. 1933, 1580.
- (11) Aschheim und Zondek, Klin. Wschr. 1928, Nr. 30. S. 1404.
- (12) Aschheim, Zeitschr. ärztl. Fortb. 1929, 5.
- (13) Philipp, Zentralbl. f. Gyn. 1930, 450.
- (14) Aschheim, Med Welt 1930, 459.
- (15) Hill und Parkes, Proc. Roy. Soc. Serie B, 107, 455.
- (16) Reiss, Selye und Balint, Endokrin. 8, 259.

Chemische Konstitution und experimentell-therapeutische Wirkung aromatischer Quecksilberverbindungen

PROF. DR. MED., DR. PHIL. W. SCHULEMANN
Wuppertal-Elberfeld

Im Verlauf von Arbeiten über die Synthese von Fuchsin nach dem Verfahren von *Nicholson* fand *Béchamp* (1) 1860 eine farblose Verbindung auf, die er als ein Arsensäureanilid



ansah. 1863 (2) stellte er diese Verbindung nach einem nach ihm benannten Verfahren besonders dar. Die Wirksamkeit dieser Verbindung gegen Trypanosomeninfektion fanden *Thomas* und *Breinl* und *Kinghorn* (3) 1905 auf. Unter dem Namen „Atoxyl“ fand sie praktisch-therapeutische Verwendung.

Ehrlich und *Berthelm* konnten zeigen (4), daß diese von *Béchamp* aufgefundene Verbindung eine Arsinsäure des Anilins ist:

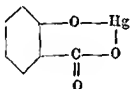


Damit war die Möglichkeit gegeben, eine große Zahl von Derivaten der Phenylarsinsäure darzustellen und auf ihre Wirkung gegen Infektionserreger zu prüfen (5). Durch Reduktion einer von *Benda* hergestellten p-Oxy-m-nitrophenylarsinsäure (6), die

- (62) Schoeller und Junkmann, Klin. Wschr. 1932, 1176.
- (93) Loeser, Arch. exp. Path. u. Pharm. 163, 530.
- (94) Cushing und Davidoff, Arch. int. m  d. 39, 751.
- (95) Goetsch, Cushing und Jacobson, Bull. Hopk. Hosp. 22, 165.
- (96) Borchardt, Zentralbl. f. klin. Med. 69, 332.
- (67) Johns, Mulveny, Potts und Laughton, Am. Journ. phys. 80, 100.
- (98) Houssay, Klin. Wschr. 1933, 773. (Zusammenfassendes Referat.)
- (69) Houssay und Biasotti, Ber. ges. Phys. 64, 143.
- (70) Cowley, Journ. pharm. exp. Therap. 43, 287.
- (71) Lucke, Heydemann und Mechler, Zeitschr. ges. exp. Med. 87, 103.
- (72) Cushing, Bull. Hopk. Hosp. 50, 3.
- (73) Cushing, Brit. med. Journ. 1927, Nr. 3169, S. 1.
- (74) Krans, Med. Klinik 1928, 662.
- (75) Chianca, Ber. ges. Phys. 68, 165.
- (79) Britton und Silvette, Am. Journ. phys. 190, 693.
- (77) Schellong, Klin. Wschr. 1931, 100.
- (78) Lichtwitz, 42. Verh. d. Ges. f. inn. Med. 1930.
- (79) Steinitz und Than, Therap. d. Gegenwart 1932, S. 299.
- (80) Collip, Anderson und Thomson, Linn  t 1933, Nr. 5737, S. 347.
- (80a) J. Bauer, D. med. Wschr. 1933, 565.
- (80b) Anselmino, Herold und Hoffmann, Klin. Wschr. 1933, 1245.
- (81) Evans und Long, Anat. Rec. 23, Nr. 1.
- (82) Uhlenhut, Proc. Soc. exp. Biol. u. Med. 18, 11.
- (83) Brissaud und Meige, Rev. neur. 1904, 1101.
- (84) Went, Naturwiss. 1933, 1.
- (85) Kögl, Naturwiss. 1933, 17.
- (89) van Dyke und Wallen-Lawrence, Journ. pharm. exp. Therap. 40, 413.
- (87) Evans, Meyer und Simpson, Am. Journ. phys. 100, 141.
- (88) Ball, Samuels und Simpson, Ber. ges. Phys. 68, 256.
- (89) Reiss, Druckrey, Hochwald, Klin. Wschr. 1933, 1949.
- (99) Wagner, Zentralbl. f. Gyn. 1939, S. 407.
- (91) Zondek, Klin. Wschr. 1930, S. 679.
- (92) Anselmino und Hoffmann, Klin. Wschr. 1931, S. 2380.
- (93) Magistris, Endokrinol. 11, 176.
- (94) Agnoli, Arch. exp. Path. u. Pharm. 134, 74.
- (95) Braier, Ber. ges. Phys. 64, 353.
- (96) Gruter und Stricker, Klin. Wschr. 1929, 2322.
- (97) Nelson und Pfiffner, Ber. ges. Phys. 59, 475; 66, 632.
- (98) Corner, Am. Journ. phys. 95, 43.
- (99) Riddle und Braucher, Am. Journ. phys. 97, 617.
- (100) Evans und Simpson, Am. Journ. phys. 89, 371.
- (101) Engle, Am. Journ. phys. 88, 101.
- (102) Zondek, Klin. Wschr. 1930, 393.
- (103) Lendle, Arch. exp. Path. u. Pharm. 159, 463.
- (104) Ihrke und d'Amour, Am. Journ. phys. 96, 289.
- (105) Aron, Caulaert und Stahl, Compt. rend. soc. biol. 107, 64.
- (106) Hohlweg und Junkmann, Klin. Wschr. 1932, 321.

Aethiops antimonialis (Hg S , Sb_2S_3),
 Aethiops cretaceus (Hg , Kreide),
 Mercurius solubilis Hahnemanni ($\text{NH}_2\text{Hg}_2\text{NO}_3$),
 Aqua phagedaenica nigra (Hg_2Cl_2 , Hg_2O , CaCl_2),
 Liquor Bellostii ($\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$, $2 \text{ H}_2\text{O}$),
 Turpethum minerale (HgSO_4 , 2 HgO),
 Pulvis Hypnoticus (HgS).

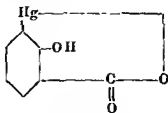
Später ging man zu einfacheren, möglichst einheitlichen Verbindungen über. Besonderen Interesses in der Therapie erfreute sich Ende des 19. Jahrhunderts das Quecksilbersalieylat (Hydrargyrum salicylatum), das erstmalig im Jahre 1880 von *Lajoux* und *Grandval* (9) beschrieben und als ein basisches Mercurisalz von der Formel



angesehen wurde.

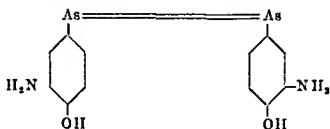
Diese Auffassung von der Konstitution des Quecksilbersalieylats bot ebensowenig Möglichkeiten zur Weiterarbeit wie das „Arsensäureanilid“ *Béchamps*.

Im Verlauf seiner Arbeiten über Quecksilberderivate aromatischer Verbindungen konnte aber *Dimroth* (10) beweisen, daß dem Quecksilbersalieylat die Konstitution



zukommt. In dieser Verbindung ist also das Quecksilberatom in gleicher Weise mit einer Valenz an ein Kohlenstoffatom eines aromatischen Ringes gebunden, wie das Arsenatom in der „Arsanilsäure“.

später auch auf anderem Wege erhalten wurde, stellten *Ehrlich* und *Bertheim* (7) das Salvarsan dar, über dessen Wirkung *Ehrlich* und *Hata* 1910 berichteten (8). Das Salvarsan



wird als eine aromatische Arsenoverbindung aufgefaßt. Daran anschließend ist eine Fülle aromatischer Arsenverbindungen dargestellt und auf ihre Wirkung geprüft worden.

Im Verlaufe dieser Arbeiten hat sich gezeigt, daß die gegen Trypanosomen- oder Spirochäteninfektionen wenig oder gar nicht wirksamen, hingegen für den Wirtsorganismus sehr giftigen anorganischen Arsenverbindungen durch Überführung in organisch-aromatische Arsenverbindungen in Wirkung und Giftigkeit weitgehend variiert werden können. Es gelang nicht nur, die Giftigkeit dieser Verbindungen für den Wirtsorganismus sehr zu vermindern, sondern auch ihre Wirkung gegen die Infektionserreger stark zu steigern. Der therapeutische Index, d. h.

$$\frac{\text{Dosis letalis minima}}{\text{Dosis minima curativa}}$$

ließ sich soweit verbessern, daß für die Behandlung von Infektionskrankheiten (Spirochäten- und Trypanosomeninfektion) wertvolle neue Arzneistoffe zur Verfügung gestellt werden konnten.

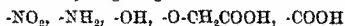
Die therapeutische Wirkung des metallischen Quecksilbers und seiner Salze gegen Lues war schon im Orient bekannt. Seit etwa 1500 wurden Quecksilber und Quecksilberverbindungen auch in Europa praktisch zur Luestherapie erfolgreich verwendet. Sehr zahlreich war die Zahl der Spezialpräparate, von denen als Beispiele nur folgende angegeben seien:

(worin R einen aromatischen Rest, Ac einen elektronegativen Rest, z. B. $-\text{CO}_2\text{CH}_3$, $-\text{NO}_2$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$ usw., bedeutet) nicht gelungen ist, durch Variation der Konstitution ähnliche Wirkungssteigerungen zu erreichen wie bei den Derivaten der aromatischen Arsinsäuren. Wohl war es möglich, Verbindungen aufzufinden, welche lokal oder allgemein besser verträglich waren, also auch dem Wirtsorganismus in höheren Dosen einverleibt werden konnten als z. B. Sublimat und anorganische Quecksilbersalze und Quecksilberkomplexsalze, aber es gelang nicht, den therapeutischen Index zu verbessern.

Ähnlich erfolglos verliefen auch Versuche, deren experimentell therapeutischen Teil *Roehl* ausgeführt hat, auf dem Gebiet der Mercuri-bis-phenylverbindungen vom Typus



(worin R einen aromatischen Rest bedeutet). Nach dem von *Dimroth* angegebenen Verfahren wurde eine Reihe solcher Mercuri-bis-phenylverbindungen mit den verschiedensten Substituenten im Phenylring dargestellt. Die Substituenten



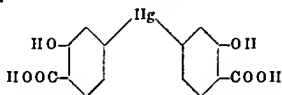
konnten in die Phenylringe des Mercuri-bis-phenyl eingeführt werden. Aber auch auf diesem Wege konnte das angestrebte Ziel, auf dem Quecksilbergebiet spezifisch wirksame Verbindungen mit einem guten therapeutischen Index aufzufinden, nicht erreicht werden.

Eine Erklärung dieser Tatsachen erscheint in gewissem Umfang möglich durch Betrachtung der chemischen und physikalischen Eigenschaften der aromatischen Quecksilberverbindungen. Diese entstehen durch Einwirkung solcher Mercurisalze, deren elektronegativer Rest nicht imstande ist mit dem Quecksilber Komplexverbindungen zu liefern, auf aromatische Verbindungen nach der Reaktionsgleichung



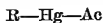
(R = aromatischer Rest, Ac = elektronegativer Rest). Zur Bildung der aromatischen Quecksilberverbindung geeignet sind

Endlich klärte *Dimroth* (11) auch noch eine schon von *Pesci* (12) beschriebene Reaktion auf und stellte mit ihrer Hilfe Verbindungen dar, in denen das Quecksilberatom mit beiden Valenzen an je ein Kohlenstoffatom zweier aromatischer Ringe gebunden ist. Als Beispiel für den Aufbau einer solchen Verbindung sei die Formel einer Mercuri-bis-salicylsäure hier wiedergegeben:



Eine wirkliche Parallele zwischen den Arsenverbindungen und den Mercuri-bis-phenylverbindungen zu ziehen, ist — trotz der relativen Ähnlichkeit des Aufbaues — vom chemischen Standpunkt aus nicht möglich. Wohl aber erscheint es verständlich, daß anschließend an die Entdeckung *Dimroths* viele Versuche unternommen wurden, durch Variation der aromatischen Quecksilberverbindungen auf dem Quecksilbergebiet ähnlich wertvolle therapeutische Ergebnisse anzustreben, wie sie auf dem Gebiet der aromatischen Arsenverbindungen erreicht worden waren. Über die organischen Quecksilberverbindungen und ihre Wirkung existiert eine ausgedehnte Literatur, auf die im einzelnen hier nicht näher eingegangen werden kann. Es muß auf die bestehenden Zusammenfassungen verwiesen werden, — vgl. insbesondere *Withmore*, *Organic Compounds of Mercury* (the Chemical Catalog Company New York 1921); *Fränkel*, *Arzneimittelsynthese*, 6. Aufl., Berlin 1927, S. 666 ff.; *Oswald*, *Chemische Konstitution und pharmakologische Wirkung* (Berlin 1927, S. 724 ff.) —, an Hand deren die Spezialliteratur leicht aufzufinden ist.

Zusammenfassend muß festgestellt werden, daß es durch Herstellung von aromatischen Quecksilberverbindungen vom allgemeinen Typus



aromatische Mercuriverbindungen ganz analog denen durch anorganische Mercurisalze und -verbindungen verlaufen. Vielleicht erklärt auch diese Feststellung die altbekannte Erfahrung, daß Gaben von Jodsalzen kontraindiziert sind, wenn der Organismus Quecksilberverbindungen enthält.

Auch die Verbindungen vom Typus



unterliegen allgemein dieser Gesetzmäßigkeit. Hier verläuft die Reaktion in zwei Etappen:

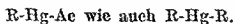


Unsere bisherigen Betrachtungen gingen davon aus, daß nur der elektronegative Rest Ac variiert, das aromatische Radikal R aber konstant gehalten wurde.

Stellt man den Grad der spaltenden Einwirkung von z. B. KJ unter gleichgehaltenen äußeren Bedingungen (Wassermenge, Temperatur, Zeit, Dispersionsgrad der aromatischen Mercuriverbindung usw.) auf verschiedene aromatische Mercuriverbindungen unter Titration der freiwerdenden Hydroxylionen fest, so gelingt es, weitere Gesetzmäßigkeiten aufzufinden:

Je einfacher das an Hg gebundene aromatische Radikal ist, d. h. je weniger Substituenten im aromatischen Rest enthalten sind, um so fester ist die Bindung des Quecksilbers an das Kohlenstoffatom, um so geringer der Grad der eintretenden Spaltung. Eine Anhäufung von Substituenten im aromatischen Rest macht die Verbindungen labiler.

Dies gilt sowohl für die Verbindungen vom Typus



Unsere Betrachtungen über das Verhalten der aromatischen Mercuriverbindungen im Organismus würden unvollständig sein, wenn wir ihnen nur die Stabilität der Verbindungen zugrunde legen würden. Auch die physikalischen Eigenschaften sind zu

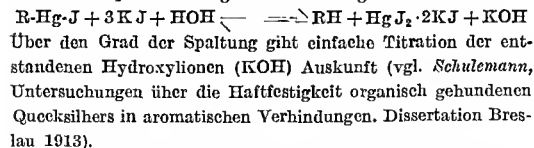
z. B. das Sulfat und Nitrat sowie die meisten Salze des Quecksilbers mit organischen Säuren, besonders das Acetat, und unter bestimmten Bedingungen das Mercurioxyd bzw. -hydroxyd (z. B. zur Mercurierung von Phenol, Naphthol usw.).

In allen diesen Fällen wird das Gleichgewicht in obiger Reaktionsgleichung nach rechts verschoben.

Quecksilbersalze mit komplexbildenden elektronegativen Resten führen nicht zur Bildung aromatischer Mercuriverbindungen, wie z. B. das Chlorid, Rhodanid, Bromid und Jodid. Im Gegenteil bewirkt der Zusatz der Alkabsalze solcher komplexbildender elektronegativer Reste zu bereits gebildetem R-Hg-Ae eine Umkehr der Reaktion, d. h. eine Wiederabspaltung des Hg-Atoms vom Kohlenstoffatom des aromatischen Restes. Am stärksten spaltend wirken die Jodsalze. Setzt man z. B. Jodkalium zu einer wässrigen Suspension von R-Hg-Ae, so tritt zunächst Substitution von Ae durch J ein:



Ein Überschuß von KJ führt dann zur Abspaltung des Hg- vom C-Atom entsprechend folgender Gleichung



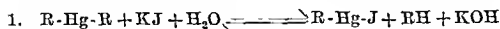
Die Spaltung verläuft um so vollkommener, je stärker die Neigung des elektronegativen Restes ist, mit dem Quecksilber Komplexsalze zu liefern. Das Jodion wirkt am stärksten, Bromion und Rhodanrest schwächer, das Chlorion am geringsten spaltend. Wenn die spaltende Wirkung von Chlorsalzen zwar in der Reihe der Halogenverbindungen am schwächsten ist, so ist sie doch groß genug, um auch im Wirtsorganismus die aromatischen Mercuriverbindungen ganz oder teilweise zu spalten. Darauf deutet hin, daß die Vergiftungen des Wirtstieres durch

aromatische Mercuriverbindungen ganz analog denen durch anorganische Mercurisalze und -verbindungen verlaufen. Vielleicht erklärt auch diese Feststellung die altbekannte Erfahrung, daß Gaben von Jodsalzen kontraindiziert sind, wenn der Organismus Quecksilberverbindungen enthält.

Auch die Verbindungen vom Typus



unterliegen allgemein dieser Gesetzmäßigkeit. Hier verläuft die Reaktion in zwei Etappen:

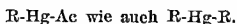


Unsere bisherigen Betrachtungen gingen davon aus, daß nur der elektronegative Rest Ac variiert, das aromatische Radikal R aber konstant gehalten wurde.

Stellt man den Grad der spaltenden Einwirkung von z. B. KJ unter gleichgehaltenen äußeren Bedingungen (Wassermenge, Temperatur, Zeit, Dispersionsgrad der aromatischen Mercuriverbindung usw.) auf verschiedene aromatische Mercuriverbindungen unter Titration der freiwerdenden Hydroxylionen fest, so gelingt es, weitere Gesetzmäßigkeiten aufzufinden:

Je einfacher das an Hg gebundene aromatische Radikal ist, d. h. je weniger Substituenten im aromatischen Rest enthalten sind, um so fester ist die Bindung des Quecksilbers an das Kohlenstoffatom, um so geringer der Grad der eintretenden Spaltung. Eine Anhäufung von Substituenten im aromatischen Rest macht die Verbindungen labiler.

Dies gilt sowohl für die Verbindungen vom Typus

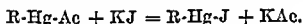


Unsere Betrachtungen über das Verhalten der aromatischen Mercuriverbindungen im Organismus würden unvollständig sein, wenn wir ihnen nur die Stabilität der Verbindungen zugrunde legen würden. Auch die physikalischen Eigenschaften sind zu

z. B. das Sulfat und Nitrat sowie die meisten Salze des Quecksilbers mit organischen Säuren, besonders das Acetat, und unter bestimmten Bedingungen das Mercurioxyd bzw. -hydroxyd (z. B. zur Mercurierung von Phenol, Naphthol usw.).

In allen diesen Fällen wird das Gleichgewicht in obiger Reaktionsgleichung nach rechts verschoben.

Quecksilbersalze mit komplexbildenden elektronegativen Resten führen nicht zur Bildung aromatischer Mercuriverbindungen, wie z. B. das Chlorid, Rhodanid, Bromid und Jodid. Im Gegenteil bewirkt der Zusatz der Alkalisalze solcher komplexbildender elektronegativer Reste zu bereits gebildetem R-Hg-Ac eine Umkehr der Reaktion, d. h. eine Wiederabspaltung des Hg-Atoms vom Kohlenstoffatom des aromatischen Restes. Am stärksten spaltend wirken die Jodsalze. Setzt man z. B. Jodkalium zu einer wässrigen Suspension von R-Hg-Ac, so tritt zunächst Substitution von Ac durch J ein:



Ein Überschuß von KJ führt dann zur Abspaltung des Hg- vom C-Atom entsprechend folgender Gleichung



Über den Grad der Spaltung gibt einfache Titration der entstandenen Hydroxylionen (KOH) Auskunft (vgl. *Schulemann*, Untersuchungen über die Haftfestigkeit organisch gebundenen Quecksilbers in aromatischen Verbindungen. Dissertation Breslau 1913).

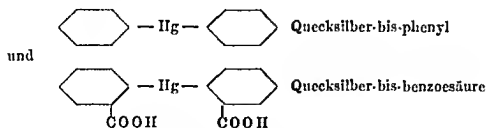
Die Spaltung verläuft um so vollkommener, je stärker die Neigung des elektronegativen Restes ist, mit dem Quecksilber Komplexsalze zu liefern. Das Jodion wirkt am stärksten, Bromion und Rhodanrest schwächer, das Chlorion am geringsten spaltend. Wenn die spaltende Wirkung von Chlorsalzen zwar in der Reihe der Halogenverbindungen am schwächsten ist, so ist sie doch groß genug, um auch im Wirtsorganismus die aromatischen Mercuriverbindungen ganz oder teilweise zu spalten. Darauf deutet hin, daß die Vergiftungen des Wirtstieres durch

Zwischen diesen Extremen finden sich alle Übergänge, bedingt durch Zahl und Art der Substituenten, die einerseits verantwortlich sind für die chemischen Eigenschaften der Verbindungen (Stabilität), andererseits für die physikalischen (Löslichkeit, Diffusibilität, Affinität usw.). Das Zusammenwirken beider Komponenten bedingt Giftigkeit und toxische Wirkung, in diesem Sonderfall der aromatischen Mercuriverbindungen bisher leider stets so, daß eine Verbesserung des therapeutischen Index nicht erreicht werden konnte.

Literatur

- (1) Comptes rendus Bd. 50, S. 870, und Bd. 71, S. 356.
- (2) Comptes rendus Bd. 56, S. 1172.
- (3) Thomas, Brit. Med. Journ. 1140 (1905); Brenal und Kinghorn, Memoir (XXI) Liverpool School of Trop. Med., 1 (1906).
- (4) Ber. d. D. ch. Ges. Bd. 40, S. 3292, 1907.
- (5) Über die experimentell-therapeutisch wirksamen As-Verbindungen hat Benda in diesem Band besonders berichtet, so daß ich bezüglich Einzelheiten auf diese Arbeit verweisen kann.
- (6) Ber. d. D. ch. Ges. Bd. 44, S. 3449, 1911.
- (7) Ber. d. D. ch. Ges. Bd. 45, S. 756, 1912.
- (8) Chemotherapie der Spirilloxen.
- (9) Journ. Pharm. Chim. (5) 5, 39.
- (10) Ber. d. D. ch. Ges. Bd. 35, S. 2032, 1902.
- (11) Ber. d. D. ch. Ges. Bd. 35, S. 2042, 1902.
- (12) Gaz. Chim. XXIX, Bd. 1, S. 394, 1899.

berücksichtigen, sonst bliebe es unerklärlich, warum z. B. die sehr stabilen Verbindungen



in der Giftigkeit so verschieden sind.

Schon kleine Dosen Quecksilber-bis-phenyl führen zu ähnlichen Vergiftungsbildern, wie wir sie für Quecksilber-bis-methyl und -bis-äthyl kennen. Hingegen kann Quecksilber-bis-benzoesäure in ähnlich hohen Dosen gegeben werden, ohne Vergiftungen hervorzurufen, wie Quecksilber-bis-propionsäure.

Maßgebend sowohl für den Eintritt und Ablauf von Vergiftungen wie auch für die experimentell-therapeutische Wirkung sind neben der Stabilität der Verbindungen vor allem auch die Resorptionsgeschwindigkeit, die Affinität und die Exkretionsgeschwindigkeit.

So erscheint es verständlich, daß die vertragenen bzw. zu Vergiftungen führenden Dosen für die verschiedenen aromatischen Mercuriverbindungen große Unterschiede aufweisen können.

Die Mercuri-bis-benzoesäure wird in großen Mengen vertragen, entsprechend ihrer Stabilität und ihrer — durch die Anwesenheit zweier dissoziierbarer salzbildender Carboxylgruppen bedingten — geringen Gewebsaffinität und sehr raschen Ausscheidung.

Die hohe Gewebsaffinität und sehr langsame Ausscheidung des Mercuri-bis-phenyl läßt die an sich sehr stabile Verbindung lange im Organismus verweilen und verursacht ein Vergiftungsbild ähnlich den Quecksilber-bis-alkylverbindungen. Langsam aber unterliegt auch das Mercuri-bis-phenyl der Aufspaltung trotz seiner großen Stabilität und spät treten die Symptome der typischen Quecksilbervergiftung dann auch ein.

größter Wichtigkeit geworden sind, sowie die Wismutverbindungen, die wiederum chemotherapeutisch fast ausschließlich als Antisymphilitica¹⁾ Verwendung finden, sollen nicht im Rahmen dieses kurzen Aufsatzes behandelt werden.

Doeh sei auf eine interessante Erscheinung hingewiesen: Je nach der ehemischen Konstitution einer Arsenverbindung, d. h. je nach der Art der Bindung des Arsens im Molekül wechselt die Indikation in dem Sinne, daß z. B. eine bestimmte Arsenverbindung ein vorzügliches Syphilismittel, für andere Zwecke aber, z. B. bei Trypanosen, unbrauchbar sein kann und vice versa; und das gleiche trifft für die Antimonverbindungen auf deren verschiedenen Anwendungsgebieten zu; beim Wismut hingegen ist es vollkommen gleichgültig, in welcher Form, ob als Element (in feinst verteiltem Zustand) oder als Hydroxyd oder aber als irgendwelches Salz es zur Verwendung gelangt: Immer erweist es sich als Antisymphilitium, womit jedoch nicht gesagt sein soll, daß etwa alle im Handel befindlichen Wismutpräparate in puncto Heilwirkung, Reizlosigkeit usw. gleichwertig seien.

Nur zögernd tritt der Referent an die Aufgabe heran, die Entwicklung der modernen Arsenchemie zu schildern, die so eng verknüpft ist mit der Salvarsan-Therapie; denn ein gewaltiges Material hat sich angesammelt, seitdem Ehrlich und Bertheim die Konstitution des Atoxyls aufgeklärt haben. Die Anzahl der Patente und die wissenschaftliche ehemische und medizinische Literatur auf dem Arsengebiet haben einen derartigen Umfang angenommen, daß es unmöglich erscheint, auf dem zur Verfügung stehenden Raum alles Interessante auch nur zu erwähnen. Sehen wir aber näher zu und stellen wir dann fest, daß von den 6000 aromatischen Arsenverbindungen, die der Chemiker hergestellt und die der Chemotherapeut geprüft hat — und deren Darstellung, Zusammensetzung, chemische und therapeutische

¹⁾ Levaditi, Sazévac.

Chemotherapeutische Arsenpräparate

PROF. DR. PHIL., DR. MED. h. c. L. BENDA
Frankfurt a. M., Hecchist

Wenn wir die Elemente Phosphor, Arsen, Antimon und Wismut betrachten, die wir alle in der 5. Gruppe des periodischen Systems finden, so fällt uns auf, daß die drei letztgenannten integrierende Bestandteile wichtigster Chemotherapeutica sind¹⁾, die Phosphorverbindungen aber in der echten Chemotherapie überhaupt keine Rolle spielen. Wohl wird der Phosphor in der Medizin seit langem — so z. B. in der Form des Phosphor-Lebertrans — bei rachitischen Erkrankungen angewandt, jedoch erfüllt keine der bisher geprüften Phosphorverbindungen die Forderung, die wir an ein Chemotherapeuticum stellen müssen: einen Krankheitserreger (es handelt sich immer um Infektionskrankheiten) zu vernichten²⁾, ohne den Organismus des Patienten zu schädigen. Um hier nur ein Beispiel anzuführen: Das Tonophosphan, eine aromatische, phosphinige Säure, bekanntlich ein wertvolles Roborans, wirkt selbst in hoher Konzentration kaum auf Trypanosomen und andere Protozoen ein, während seine arsenhaltigen Analoga, aromatische arsinige Säuren, schon in einer ungeheuren Verdünnung die Erreger der Schlafkrankheit glatt abtöten. Wir wollen uns hier nur mit Arsenverbindungen beschäftigen, die ja eine überragende Bedeutung in der Therapie der Syphilis, der Framboesie, des Rückfallfiebers, der Brustseuche der Pferde und einiger Trypanosen erlangt haben. Die Antimonverbindungen³⁾, die namentlich für die Behandlung bestimmter Tropenkrankheiten, wie der Bilharziosis, der Leishmaniosen (besonders Kala-Azar) von

¹⁾ Vgl. Walbum, Levaditi, Kleeberg, Fischl; siehe auch H. Schmidt (Medizin und Chemie 1933, S. 111).

²⁾ Durch Abtötung oder Entwicklungshemmung.

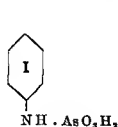
³⁾ Hans Schmidt, Uhlenhuth und Mitarbeiter.

Arsensäure verhalten, also für den Chemiker nicht interessant und auch für den Mediziner wertlos sein. Immerhin wurde das Präparat in den ersten Jahren des 20. Jahrhunderts — es war damals bereits etwa 40 Jahre alt — in den Handel gebracht, nachdem *Ferdinand Blumenthal* seine relativ geringe Toxizität erkannt hatte. Die Substanz erhielt wegen dieser letzten Eigenschaft den Namen *Atoxyl*. *Blumenthal*, *Lassar* und *Schild* verwendeten sie therapeutisch bei gewissen Hautkrankheiten und inneren Krankheiten. *Thomas* und *Breinl* prüften sie bei der Trypanosomen-Maus, *Ayres Kopke* auch bei schlafkranken Menschen und *Robert Koch* dann im größten Maßstab in den mit Schlafkrankheit verseuchten afrikanischen Gebieten. *Uhlenhuth* behandelte mit großem Erfolge verschiedene Spirillosen, Hühnerspirochaetose, Rekurrens und schließlich sowohl im Tierversuch wie beim Menschen die Lucas, nachdem von ihm und *Mulzer* eine brauchbare Methodik der Prüfung am Kaninchenhoden geschaffen war. Leider rief das Präparat bisweilen schwere Nebenerscheinungen (Opticusatrophien) hervor und seine toxische Dosis lag der therapeutischen so nahe, daß diese Schädigungen nicht mit Sicherheit zu vermeiden waren. Die Aufklärung der chemischen Konstitution ermöglichte aber, die jetzt mit einem Seblage für den Chemiker interessant gewordene Verbindung, die wegen ihrer formellen Analogie mit der Sulfanilsäure (III) nun mit Ars anilsäure bezeichnet wurde, chemisch nach verschiedenen Richtungen zu verändern, zu dem Zweck, den chemotherapeutischen Index $\frac{(\text{Dosis curativa})}{(\text{Dosis tolerata})}$ zu verbessern.

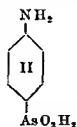
Das nächste Problem war die Gewinnung zahlreicher neuer Arsinsäuren, die dann alle der Reduktion unterworfen werden sollten; denn *Ehrlich* hatte inzwischen gefunden, daß die Derivate des 5 wertigen Arsens, zu denen die Arsinsäuren zählen, in vitro nur eine relativ geringe, in vivo aber eine außerordentlich starke Wirkung auf die Krankheitserreger ausüben, welche überraschende Erscheinung er einer im und durch den lebenden Organismus

Eigenschaften in unserer Kartothek aufgezeichnet sind —, kaum ein Dutzend in den Arzneischatz aufgenommen wurde, so ist das zwar betrübend für die Erfinder und die Prüfer dieser Tausenden von Substanzen, aber sehr erfreulich für den Chronisten, dem es obliegt, dem medizinischen Leser nur über die wenigen praktisch als wertvoll erkannten Präparate, deren Geschichte, chemischen Werdegang usw. einiges zu sagen. Diese unsere Aufgabewird noch wesentlich vereinfacht dadurch, daß, wie wir weiter sehen werden, nahezu alle brauchbaren Produkte, wenigstens soweit sie der Behandlung der Lues dienen, aus ein und derselben Verbindung gewonnen wurden, nämlich aus der 1907 zuerst von dem Verfasser hergestellten Nitrooxyphenylarsinsäure¹⁾.

Nachdem Ehrlich und Berthelm die chemische Konstitutionsformel des von Béchamp im Jahre 1863 aufgefundenen und irrtümlich als Arsensäureanilid (I) bezeichneten Körpers richtiggestellt, nämlich erkannt hatten, daß diese Substanz nicht der von Béchamp angegebenen Formel entspricht, sondern eine p-Aminophenylarsinsäure (II) ist:



falsche Formel



richtige Formel

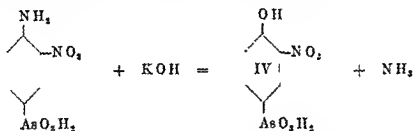


Sulfanilsäure

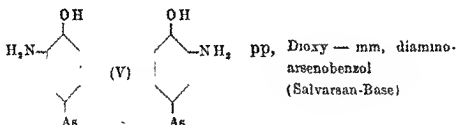
war der Synthese neuer Arsenverbindungen der Weg geöffnet. Vorher hatten die Chemiker der Béchampschen Verbindung keine Beachtung geschenkt; denn mit einem Arsensäureanilid konnte man nichts anfangen; es mußte, so nahm man an, sich nicht viel anders als ein Gemisch der beiden Komponenten: Anilin und

¹⁾ Ber. d. deutsch. Chem. Ges. 44, 3445; 3449.

führen. Um zu den bisher unbekannten Arsenverbindungen des o-Aminophenols zu gelangen, stellte Verfasser die p-Oxymetanitrophenylarsinsäure (IV) dar. Diese Verbindung hat praktische Bedeutung erlangt; aus ihr werden, wie oben bereits angedeutet, nahezu alle wichtigen Antisymphilitica der Arsenreihe erhalten. Ich gewann sie zunächst durch Nitrierung der Oxyphenylarsinsäure, später auf technisch besserem Wege durch Erhitzen von Nitroarsanilsäure mit Kalilauge:

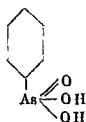


Bei durchgreifender Reduktion dieser Substanz erhielten *Ehrlich* und *Bertheim* das Dioxydiamidoarsenobenzol (V), dessen Chlorhydrat, das Salvarsan, heute meist als Alt-Salvarsan bezeichnet,



und dessen Natriumphenolat als Salvarsan-Natrium im Handel ist. Das Salvarsan, das wegen seiner besonders intensiven Wirkung von manchen Venerologen noch heute allen anderen Derivaten vorgezogen wird, ist wie letztere sehr empfindlich gegen Sauerstoff und zeigt den weiteren Nachteil, daß es nur auf umständlichem Wege mit Natronlauge in Lösung gebracht werden kann; auch reagieren diese Lösungen, ebenso wie die des wasserlöslichen Salvarsan-Natrium, alkalisch, weshalb es heute vom Neosalvarsan (VI) in den Hintergrund gedrängt

bewirkten Reduktion der Arsinsäuren (a) zu Abkömmlingen des 3wertigen Arsens, den Arsinoxyden (b) und den Arsenverbindungen (c), zusehrieb.



Phenylarsinsäure
(a)



Phenylarsinoxyd
(b)



Arsenobenzol
(c)

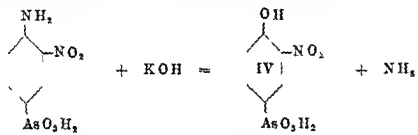
Es zeigte sich ferner, daß den Arsinoxyden die weitaus stärkste Wirkung, aber auch die höchste Giftigkeit, den Arsinsäuren die geringste Wirkung und Toxizität zukommt und daß die Arsenverbindungen, etwa in der Mitte stehend, den günstigsten Index aufweisen. Das Problem lautete dementsprechend so:

1. Herstellung möglichst vieler verschiedenartiger Arsinsäuren.

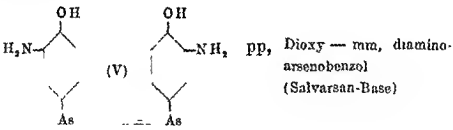
2. Um dem Organismus die Reduktionsarbeit abzunehmen, muß man ihm die bereits reduzierten Substanzen zuführen, also die Arsinsäuren nicht als solche anwenden, sondern sie vorher in die Arsenverbindungen überführen.

Der erste Teil dieser Aufgabe konnte nur in relativ seltenen Fällen nach *Béchamp*, d. h. durch Erhitzen von aromatischen Aminen mit Arsensäure gelöst werden, denn nur wenige Amidverbindungen lassen sich auf diesem Wege mit guter Ausbeute in Arsinsäuren überführen; die elegante Synthese von *Bart*: Einwirkung von arsenigsanren Salzen auf Diazoverbindungen, wurde erst mehrere Jahre später gefunden. Aber man hatte ja, nachdem die Konstitution des Atoxyls aufgeklärt war, in dieser Verbindung selbst ein wundervolles Ausgangsmaterial für neue Arsinsäuren in der Hand; man konnte die Amidogruppe in verschiedenartiger Weise umwandeln und die Benzolwasserstoffe durch andere Substituenten mannigfacher Art ersetzen, also neue Gruppen ein-

führen. Um zu den bisher unbekannten Arsenverbindungen des o-Aminophenols zu gelangen, stellte Verfasser die p-Oxymetanitrophenylarsinsäure (IV) dar. Diese Verbindung hat praktische Bedeutung erlangt; aus ihr werden, wie oben bereits angedeutet, nahezu alle wichtigen Antisypilitica der Arsenreihe erhalten. Ich gewann sie zunächst durch Nitrierung der Oxyphenylarsinsäure, später auf technisch besserem Wege durch Erhitzen von Nitroarsanilsäure mit Kalilauge:

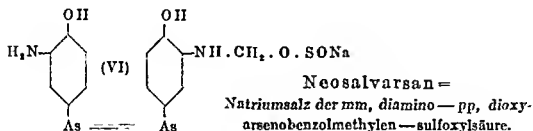


Bei durchgreifender Reduktion dieser Substanz erhielten Ehrlich und Berthelm das Dioxydiamidoarsenohenzol (V), dessen Chlorhydrat, das Salvarsan, heute meist als Alt-Salvarsan bezeichnet,



und dessen Natriumphenolat als Salvarsan-Natrium im Handel ist. Das Salvarsan, das wegen seiner besonders intensiven Wirkung von manchen Venerologen noch heute allen anderen Derivaten vorgezogen wird, ist wie letztere sehr empfindlich gegen Sauerstoff und zeigt den weiteren Nachteil, daß es nur auf umständlichem Wege mit Natronlauge in Lösung gebracht werden kann; auch reagieren diese Lösungen, ebenso wie die des wasserlöslichen Salvarsan-Natrium, alkalisch, weshalb es heute vom Neosalvarsan (VI) in den Hintergrund gedrängt

worden ist. Dieses Präparat entsteht aus dem Alt-Salvarsau durch Einwirkung von Formaldehydsulfoxylat



Sein Natriumsalz löst sich mit neutraler Reaktion in Wasser, die Lösung ist leicht zu bereiten, sie muß jedoch ebenso wie die des Alt-Salvarsan vor der Einwirkung der Luft geschützt werden, da sonst hochtoxische Körper entstehen. Das Neosalvarsan ist heute wohl das am häufigsten angewandte Salvarsan-Präparat. Es erübrigt sich daher, auf Einzelheiten hier einzugehen; aber nicht verschweigen dürfen wir, daß Nachahmungen unter den verschiedensten Namen im Ausland in den Handel gebracht worden sind, von denen eine ganze Anzahl in puncto Verträglichkeit und Wirksamkeit dem Originalpräparat gegenüber erheblich zurückstehen.

Von den von *Ehrlich* und *Karrer* dargestellten Metall-Salvarsan-Präparaten wurde das Kupfersalvarsan, das eine sehr gute trypanozide Wirkung zeigte, bald wieder verlassen, da es die Venenwand stark schädigt, dagegen hat das Silbersalvarsan eine gewisse Bedeutung erlangt, nachdem *Kolle* und *Ritz* die spirochaetozide Wirkung des Silbers festgestellt und daraufhin das Silbersalvarsan für die Behandlung der Lues empfohlen haben. Das Präparat wird durch Einwirkung von Silbersalzen auf Salvarsan hergestellt und in Form seines Natriumsalzes angewandt. Leider zeigt dieses außerordentlich wirksame Produkt verschiedene Nachteile. Seine braune Farbe stört bei der Injektion, auch ist die Substanz ganz besonders zersetzlich und die erfolgte Zersetzung zeigt sich nicht ohne weiteres dem Auge, da auch die unzersetzte reine Substanz stark gefärbt ist. Das

Produkt wird meist nur bei hartnäckigen Fällen und besonders bei Späterkrankungen des Zentralnervensystems angewandt.

Das Neosilbersalvarsan, eine Verbindung von Silbersalvarsan mit Neosalvarsan (von *Kolle*, *Binz* und *Bauer*) ist besser verträglich, hat aber andererseits eine geringere therapeutische Wirkung auf Syphilis als Silbersalvarsan. Erwähnt seien hier noch das Hexaaminoarsenobenzol, aus der 3.5-Dinitroarsanilsäure bzw. der 3.4.5-Triaminohenzolarsinsäure¹⁾ gewonnen, das nach *Kolles* Untersuchungen besonders gute Wirkung bei Schweinerotlauf zeigt; und sein Bismethylderivat Arsalyt (von *Ach* und *Rothmann* dargestellt), von *Giemsa* in Form seines Carbaminates als Antisymphiliticum empfohlen, ferner die Präparate Alhert 102 und 188 (von *Albert* gefunden und von *Kalberlah* biologisch geprüft), ebenfalls stark wirkende Luesmittel. Diese Präparate sind bisher nicht in den Arzneischatz eingeführt worden.

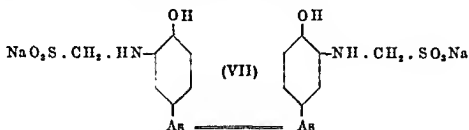
Interessant ist auch eine Arsenopyrazolonverbindung, das sogenannte Sulfoxyl-Salvarsan von *Streitwolf*, das in Lösung verhältnismäßig beständig ist, aber weniger als Antisymphiliticum denn als Mittel gegen Rekurrens sich bewährt hat (*Kolle*).

Wenn wir weiterhin eine Arsenoverbindung erwähnen, die aus dem Rüstzeug des Chemotherapeuten wieder verschwand, so geschieht dies, weil sie historisch von Interesse ist. Es handelt sich um das Arsenophenylglycin (Spirarsyl), das sehr gute trypanozide Wirkung zeigt und das, wie *Ehrlich* seinerzeit fand, selbst arsanilfeste Trypanosomen noch abzutöten vermag, also, wie *Ehrlich* dies etwa ausdrückte, die Chemozeptorenstummel (d. i. der Rest von Avidität, die z. B. ein arsanilfester Trypanosomenstamm gegenüber Arsenikalien hesitzt, der aber nicht mehr genügt, um Arsanilsäure zu binden) gleichsam wie eine Beißzange fassen und damit das Trypanosoma unschädlich machen kann. Das Arsenophenylglycin hat sich, namentlich

¹⁾ *Benda*, Ber. der deutsch. Chem. Ges. 47, 1316.

wegen seiner außerordentlichen Unbeständigkeit, nicht dauernd in die Therapie einführen lassen.

Alle bisher besprochenen Präparate werden intravenös gespritzt. Einen wesentlichen technischen Fortschritt bedeutete die Einführung des Myo-Salvarsan (VII)

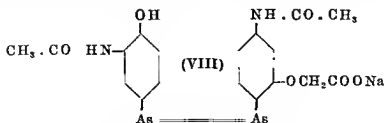


Myo-Salvarsan =

Dioxydiaminoarsenobenzol-dimethansulfonsaures Natrium

durch *Kolle*, eines Präparates, das aus dem Salvarsan durch Einwirkung von Formaldehydbisulfit gewonnen wird. Diese Substanz ist für intramuskuläre Anwendung geeignet, die Injektionen werden, wenn langsam und richtig ausgeführt, gut vertragen.

Der neueste und, wie wir glauben, recht bedeutsame Fortschritt auf dem Gebiete der Antisymphilitica ist die Synthese des Solu-Salvarsan (VIII) gewesen, die von *Streitwolf*, *Fehrle* und *Herrmann* im Höchster Laboratorinm durchgeführt wurde. Zur Darstellung dieser wichtigen Substanz geht man wieder von der erwähnten Nitrooxyphenylarsinsäure aus, die man zunächst in Spirocid überführt, von dem noch die Rede sein wird. Das Spirocid läßt sich durch ein besonderes Verfahren in ein sogenanntes unsymmetrisches Arsenobenzolderivat umwandeln.

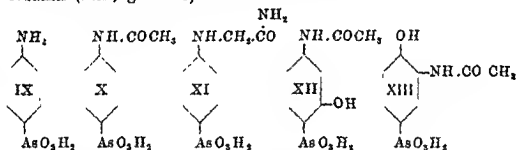


Solu-Salvarsan =

3-acetylamino-4-oxybenzoldarseno-4'-acetylamino-2'-phenoxyessigsäures Natrium.

Das Solu-Salvarsan, das in seiner therapeutischen Wirkung dem Neosalvarsan ungefähr gleichwertig ist, hat diesem gegenüber den Vorzug, daß es — ebenso wie Myo-Salvarsan — intramuskulär gespritzt werden darf; ein weiterer großer Vorteil liegt aber darin, daß seine wässerigen sterilen Lösungen haltbar sind, so daß man dem Arzt die gebrauchsfertige Lösung zur Verfügung stellen kann.

Die genannten Verbindungen leiten sich von dem Arsenobenzol (mit 3 wertigem Arsen) her, und in dieser Gruppe finden wir die besten Antisypilitica; von Derivaten des 5 wertigen Arsens, den Arsinsäuren, zu denen Schlafkrankheitsmittel, wie die Arsanilsäure (IX), das Arsacetin (X), das Tryparsamid Trypotban¹⁾ (XI) und das neuerdings von *Fourneau* empfohlene Orsanin (XII) gehören,



ist in den Handel bisher nur ein brauchbares Antisypiliticum gekommen, das oben bereits kurz erwähnte Spiroeid (XIII), von dem wir auch schon deshalb sprechen müssen, weil es eine merkwürdige Geschichte hat. Es wurde nämlich von *Ehrlich* und seinen Mitarbeitern schon lange vor dem Salvarsan aufgefunden, übrigens ebenfalls aus der Nitrooxyphenylarsinsäure hergestellt, die aber nicht im Arsinsäurerest, sondern nur in der Nitrogruppe reduziert und dann azetyliert wurde. Von *Ehrlich*, der damals noch hauptsächlich über Trypanosomen arbeitete, wurde sie beiseite gelegt, nachdem er festgestellt hatte, daß sie nur geringe trypanozide Wirkung besitzt. *Ehrlich* seute sich

¹⁾ Zuerst von *Jacobs* und *Heidelberg* dargestellt, von *Louise Pearce* geprüft.

auch nach den trüben Erfahrungen, die mit anderen Arsinsäuren gemacht werden waren (Erblindungen durch Atoxyl, Ertanbungen durch das französische Hektin — eine Benzesulfearsanilsäure), weitere Arsinsäuren beim Menschen anwenden zu lassen; erst nachdem *Fourneau* und *Tréjouel* die Verbindung viele Jahre später neu herstellten und *Levaditi* und *Navarro-Martin* fanden, daß sie peroral bei syphilitischen Kaninchen gut wirkt, wurde sie zur Behandlung und Prophylaxe der menschlichen Syphilis empfohlen und unter dem Namen Stovarsol durch *Fournier* und *Schwarz* in die klinische Praxis eingeführt. Das deutsche Originalpräparat führt den Namen Spirocid; wenn es auch — ebenso wie das chemisch damit identische Stovarsol — bei weitem die Salvarsano in ihrer Wirkung nicht erreicht, so wird es doch in solchen Fällen, wo man nicht spritzen kann oder will, namentlich auch bei Säuglingen, gern und mit recht gutem Erfolge angewendet. Das Spirocid ist — wie schon erwähnt — das einzige bisher im Handel befindliche peroral brauchbare arsenbaltige Antisypbiliticum; es wird auch bei anderen Spirochaetosen und Protozeenerkrankungen, bei Amöbendysenterie, nenerdings auch bei Lupus erythematodes usw. empfohlen. Wir sehen hier wieder, daß man eigentlich jedes neue Mittel bei den verschiedensten Krankheitserregern und den verschiedensten Tierarten, aber auch auf die verschiedensten Anwendungsweisen hin prüfen muß, wenn man nicht riskieren will, wertvolle Präparate als wertlos beiseite zu stellen. So ist es z. B. auch vorgekommen, daß man Verbindungen, die bei Trypanosoma Brucei (Nagana), einem im allgemeinen verhältnismäßig leicht beeinflussbaren Trypanosoma, versagt hatten, aus diesem Grunde bei Congolense, einem in der Regel sehr resistenten Trypanosoma, überhaupt nicht prüfte, während neuere Untersuchungen gezeigt haben, daß solche Präparate trotzdem auf Congolense wirken können. Tatsächlich ist es Ehrlich und seinen Mitarbeitern seinerzeit entgangen, daß gewisse sekundäre, aromatische Diaryl-arsinsäuren, die Verfasser im Jahre 1906 aufgefunden hat

und die nur schwach auf *Trypanosoma Brucei* wirken, Hunde, die mit *Congolense* infiziert wurden, zu heilen vermögen, wie *Schnitzer* kürzlich feststellte.

Von den weiter oben genannten primären Arsinsäuren wurde das Arsacetin (Acetarsanilsäure) als — weniger giftiger — Ersatz der Arsanilsäure empfohlen, es ist aber ebenfalls nicht ganz harmlos; interessant ist das Tryparsamid (Trypothan), weil es bei Spätstadien der Lues und Schlafkrankheit, in letzterem Falle namentlich in Kombination mit Gormanin, häufig Gutes leistet. Die — meist kristallinischen — Arsinsäuren wirken in solchen Fällen, in denen das Zentralnervensystem bereits infiziert ist, wohl wegen der größeren Diffusionsfähigkeit ihrer Lösungen, häufig besser als die an sich stärker trypanoziden, aber kolloiden oder semikolloiden Arsenoverbindungen.

Die Arbeiten auf dem Arsengebiet werden weitergeführt. Die wissenschaftliche und die Patentliteratur nehmen noch dauernd an Umfang zu; Erwähnung verdienen die Pyridin-arsenverbindungen von *Binz*, *Räth* und Mitarbeitern, obgleich sie bisher noch nicht Eingang in den Arzneischatz gefunden haben. Fortschritte, auch in bezug auf die Ausdehnung des Indikationsgebietes, dürfen erwartet werden. So sind gegenwärtig Arsenakridin-Präparate in klinischer Prüfung, von denen einige nach den Laboratoriumsversuchen von *Schnitzer* erhöhte Wirkung gegenüber hämolytischen Streptokokken aufweisen, andere nach den klinischen Ergebnissen für die lokale Behandlung der Cervix-Gonorrhöe besonders geeignet erscheinen.

Aber wir müssen rückblickend bekennen, daß auch für die Arsenpräparate zutrifft, was wir schon über Akridinpräparate¹⁾ und ganz allgemein über Chemotherapeutica²⁾ sagen mußten:

¹⁾ „Medizin und Chemie“, Bd. I, S. 45 ff.

²⁾ Vgl. z. B.: „Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung der Chemotherapeutica“ (Zeitschr. f. angew. Chem. 1933, S. 85 ff., und Klin. Wochenschr. 1932, S. 1485).

daß wir nämlich dem Ideale *Ehrlichs*, „chemisch zu zielen“, auch nach 25 jähriger Forschung nicht näher gekommen sind. Im gewissen Sinn haben wir uns sogar davon entfernt; denn wir haben erkannt, daß auch die Einteilung der chemischen Substituenten in eutherapeutische und dystherapeutische¹⁾ nicht aufrecht zu halten ist. Bei einer genauen Überprüfung des in diesem großen Zeitraum gesammelten Materials, das eigener und fremder Forschung entstammt, fanden wir, und zwar bei den verschiedensten chemotherapeutischen Verbindungen (bei den Triphenylmethan-, den Azo-, den Akridin-, den Chinolin-, den Arsen-, den Antimonderivaten usw.), daß ein und derselbe Substituent, sei es nun ein Alkyl, ein Alkoxyl, ein Hydroxyl, ein Halogen, eine Amido-, eine Nitro-, eine Sulfogruppe usw., in dem einen Fall eutherapeutisch, in dem anderen Fall dystherapeutisch wirken, daß man also über diesen Einfluß nichts mit Sicherheit voraussagen kann. Immerhin sind uns bisweilen doch recht wichtige Regelmäßigkeiten aufgefallen, so z. B., daß fast alle arsenhaltigen Syphilismittel eine Hydroxylgruppe in para-, dagegen nahezu alle arsenhaltigen Trypanosomenmittel Stickstoff in para-Stellung zum Arsen aufweisen; aber auch hier zeigen sich häufig Ausnahmen, so enthält das Syphilismittel Arsalyt überhaupt keinen Sauerstoff und das Soln-Salvarsan, ebenfalls ein ausgesprochenes Antilueticum, entspricht nur quasi zur Hälfte den angedeuteten Bedingungen, während „die andere Hälfte“ des Moleküls (mit Stickstoff in para-Stellung zum Arsen) nach dem Gesagten dem Präparat eigentlich den Charakter eines Schlafkrankheitsmittels verleihen müßte (siehe oben die Formeln).

Wenn *Paul Ehrlich* trotz dieser Schwierigkeiten und trotz einer — für unsere heutigen Begriffe — verhältnismäßig geringen

¹⁾ Eutherapeutische Substituenten sind solche, durch deren Eintritt in das Molekül eines Arzneimittels der chemotherapeutische Index verbessert wird. Im entgegengesetzten Falle spricht man von dystherapeutischen Substituenten.

Zahl von „Schüssen“ dennoch mehrere hervorragende Treffer gemacht hat, so müssen wir dem genialen Manne um so größere Bewunderung zollen; und seine Erfolge, wie auch die von Anderen später erzielten, sollen uns ermutigen, unbeirrt durch Enttäuschungen, hoffnungsvoll weiterzuschreiten auf dem beschwerlichen Wege empirischer Forschung.

Über den Wert der Tiertumoren für experimentelle therapeutische Arbeiten im Laboratorium

PROF. DR. MED. OERHARD DOMAOK

Aus dem Institut für Experimentelle Pathologie und Bakteriologie der I. O. Farbenindustrie A.G.,
Werk Elberfeld

Für die üblich im Laboratorium verwendeten Tiertumoren, wie das *Ehrlichsehe* Mäusecarcinom, das *Jensensche* Ratten-sarkom, den *Flexner-Joblingschen* Tumor usw., muß man den Einwand als gerechtfertigt erscheinen lassen, daß es sich hierbei um relativ gutartige Tumoren handelt, die zwar bei der Transplantation eine gute Impfaushente gehen, aber im wesentlichen doch nur expansiv, weniger destruierend wachsen und nur sehr selten Metastasen bilden.

Ein transplantabler Tumor, bei dem dieser Einwand aber nicht mehr zu Recht besteht, ist das von *Brown, Wade* und *Pearce* beobachtete Kaninchencarcinom. Dieser Tumor entwickelte sich am Skrotum eines Kaninchens 4 Jahre nach einer syphilitischen Infektion. Die Überimpfung dieses Tumors gelang den genannten Autoren immer in das Hodengewebe, meist in das Gehirn, die Muskulatur und die vordere Augenkammer. Dieser Tumor zeichnet sich durch eine außerordentlich starke Neigung zur Metastasenhildung aus. Wir verdanken die Möglichkeit, an diesem interessanten Tumor Forschungen anzustellen, den genannten amerikanischen Autoren, die uns denselben freundlicherweise zur Verfügung gestellt haben. Implantiert man ein Stückchen dieses Tumors in den Hoden eines Kaninchens oder spritzt den sterilen Tumorbrei in den Hoden, so entwickelt sich in etwa 14 Tagen ein walnuß- bis doppelt walnußgroßer Hodentumor. In den Lymphbahnen des Samenstrangs fortschreitend, erzeugt er sehr bald Metastasen in den Lymphdrüsen des kleinen Beckens und in den paraortalen Lymphdrüsen, zum Teil mehr als faustgroße Tumoren. Zahlreiche Metastasen der verschiedensten Größe entwickeln sich im Mesenterium und

wandeln das Zwerchfell in eine Tumormaplate um (*siehe Abb. 1*). Mit wechselnder Häufigkeit findet man Metastasen in der Leber, den Nieren, den Nebennieren, der Lunge und im Mediastinum. Eine Gesetzmäßigkeit, mit welcher Häufigkeit und in welchem Ausmaß diese Organe befallen werden, konnten wir nicht feststellen. Auffallend war jedoch, daß in manchen Impfungen beispielsweise besonders zahlreiche und ansgedehnte Leber- und Nierenmetastasen (*siehe Abb. 2*) vorhanden waren. Bisweilen traten die durch die Nierenmetastasen verursachten Symptome ganz in den Vordergrund der Krankheitserscheinungen, bei noch relativ kleinem Primärtumor gingen die Tiere an Urämie zugrunde. In anderen Fällen konnten wir sehr frühzeitig durch die Atemnot der Tiere schon während des Lebens ein bevorzugtes Befallensein der Lungen (*siehe Abb. 3*) diagnostizieren. In anderen Impfungen hingegen sahen wir das besonders gehäufte Auftreten von Augen- oder Knochenmetastasen (*siehe Abb. 4*). Auch Schleimhautmetastasen im Magen und Darm haben wir vereinzelt beobachtet können, ebenso Metastasen in der Muskulatur. Eine Milzmetastase sahen wir unter Hunderten von Tieren nur einmal. Nicht selten gehen die Tiere schon 4 Wochen nach der Impfung an ausgedehnten Metastasierungen zugrunde. Während *Brown*, *Wade* und *Pearce* bei subkutaner oder intrakutaner Impfung kein Angehen des Tumors beobachten konnten, sahen wir bei subkutaner Impfung nach einer Virulenzsteigerung durch rasch aufeinander folgende Hodenimpfungen auch vielfach ein gutes Angehen des verimpften Tumorbreies mit hochgradigster Metastasenbildung. Zur Überimpfung verwendeten wir mit Erfolg nicht nur die Hodentumoren, sondern auch Netz-, Zwerchfell-, Nierenmetastasen usw. Die Überimpfung gelang bei den verschiedensten von uns verwendeten Kaninchenrassen mit gleich gutem Erfolg. Nur bei Angorakaninchen schienen uns die Impfausbeuten geringer; niemals konnten wir den Tumor zum Angehen bringen bei den Opossumkaninchen. Bei chemotherapeutischen Arbeiten mit den *Brown-Pearce*-Tumoren muß deshalb

gefordert werden, daß die verschiedene Empfänglichkeit der verschiedenen Rassen beachtet wird.

Betrachtet man die Zellen des Tumors im Tumorchreiausstrich mikroskopisch, so erkennt man in den großen, zum Teil runden, zum Teil polygonalen Zellen einen sehr großen Kern, der teilweise Vakuolen aufweist. Selbst nach achttägigem Aufenthalt im Brutschrank unter sterilen Bedingungen in Ringerlösung sind die Zellen noch gut zu erkennen, ja man hat teilweise sogar den Eindruck, daß einzelne Zellen bzw. Zellkomplexe sich auf Kosten anderer, stärker zerfallener Zellen vermehrt haben (*siehe Abb. 5 und 6*).

Verfolgt man die Entwicklung des Tumors histologisch, so sieht man nach der Injektion von 0,5 bzw. 1,0 ccm Ca-Brei in den Kaninchenhoden nach 8 Tagen ein Wachstum in kleinen Nestern und Strängen unter allmählicher Zerstörung der Samenkanälchen (*siehe Abb. 7 und 8*).

Die Ausbreitung des Tumors erfolgt auf dem Lymph- und Blutwege. In den Lymphdrüsen des Beckens entwickeln sich gewöhnlich sehr bald ausgedehnte Metastasen. Bisweilen aber sieht man auch, daß ein in den Drüsen bereits zur Ansiedlung gelangter Tumor wieder zur Einschmelzung kommt. Schon mikroskopisch erkennt man bei einiger Übung die eingeschmolzenen Tumoreinseln an einer eigenartigen gelbbraunen Farbe (Lipoide). In den Metastasen zeigt der Tumor meist nicht mehr den erwähnten alveolären Bau, sondern erinnert dann histologisch bisweilen mehr an den Bau eines zellreichen polymorphzelligen Sarkoms oder eines Spindelzellsarkoms (*Abb. 9, 10 und 11*). Die Anshreitung des Tumors auf dem Blutwege ist bisweilen in den Lungen sehr deutlich (*siehe Abb. 12*).

Der Versuch, 8 Tage nach Einimpfung eines Tumorstückchens in den Hoden oder nach Einspritzung von 0,5—1,0 ccm Tumorchreies in den Hoden das Tier vor der Anshreitung des Tumors durch Metastasen zu schützen, indem der heimpfte Hoden exstirpiert wurde, war in fast allen Fällen vergeblich. Ebenso



Abb. 1

Brown-Pearce-Tumor (Kaninchen)

Primärtumor im Hoden Metastasen im kleinen
Becken, Mesenterium, Netz, Zwerchfell

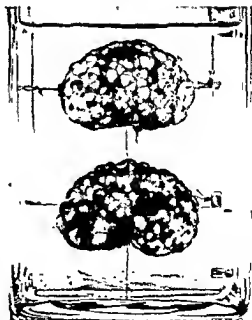


Abb. 2

Brown-Pearce-Tumor (Kaninchen)

Nierenmetastasen



Abb. 3

Lungenmetastasen bei primären Hoden-Ca.
(Kaninchen)



Abb. 4

Augenmetastasen bei primären Hoden-Ca.



Abb. 5

Kaninchen-Hoden-Ca.-Brel-Ausstrich, frisch

Vergrößerung 1.850

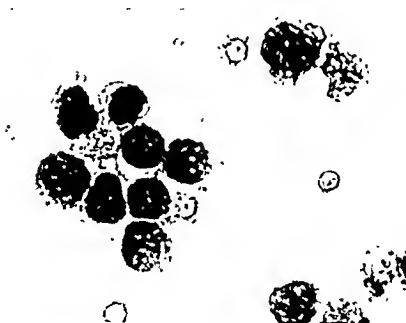


Abb. 6

Kaninchen-Hoden-Ca.-Brel-Ausstrich nach
8 tägigem Brutschrankaufenthalt bei 37°

Vergrößerung 1.850

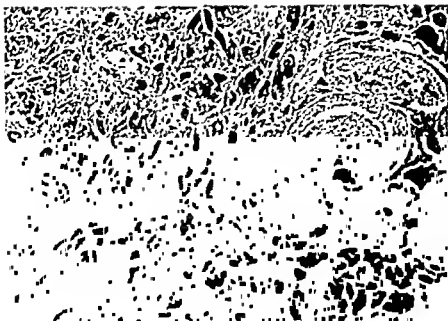


Abb. 7

Entwicklung des Tumors 8 Tage nach Breitinjektion in den Hoden, Wachstum in kleinen Nestern und Strängen

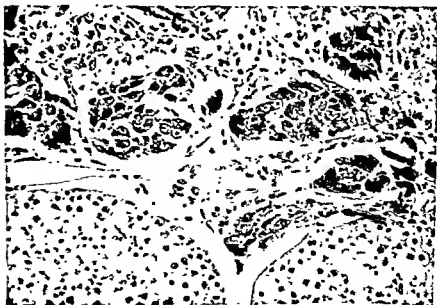


Abb. 8

Alveoläres Wachstum des Hodentumors 8 Tage nach Breitimpfung bei stärkerer Vergrößerung 1:300



Abb. 9

Nierenmetastasen des Kaninchentumors

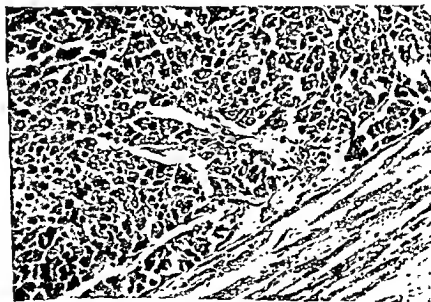


Abb. 10

Lebermetastase

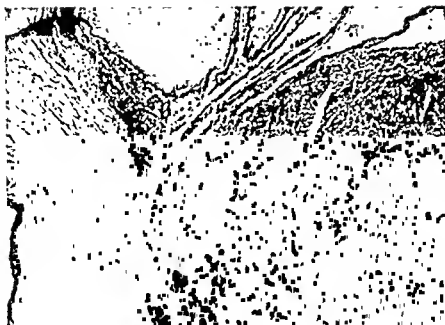


Abb. 11

Augenmetastase
(Spindelzellen Sarkomcharakter)

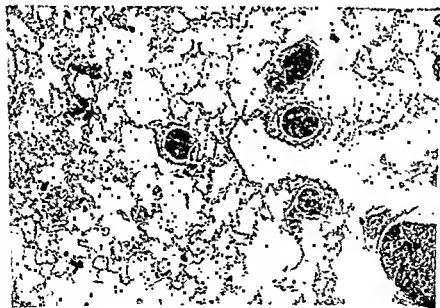


Abb. 12

Intravaskuläre Ausbreitung des Tumors
in der Lunge

wie wir wissen, daß auch beim Menschen nach scheinbar radikalen Operationen bei besonders bösartigen Tumoren, wie z. B. auch bei Hodentumoren, nur in wenigen Fällen eine Dauerheilung zu erzielen ist, ist hier selbst schon 8 Tage nach der Impfung durch radikale Entfernung des Hodens und des Samenstranges keine Heilung mehr möglich. Bei dem außerordentlich destruktiven Wachstum dieses Tumors, seiner enorm raschen oder ausgedehnten Metastasierung, kann man den Schluß ziehen, daß einige der transplantablen Tiertumoren nicht gutartiger sind als menschliche Carcinome.

Die bisweilen geradezu rasend schnelle Durchseuchung des ganzen Kaninchenorganismus durch Tumormassen könnte den Verdacht erwecken, daß die Ursache dieses Tumors ein Virus sei. Jedoch ist uns bisher weder morphologisch noch kulturell der Nachweis eines solchen gelungen. Auch gelang es nicht, durch zellfreie Filtrate Tumoren zu erzeugen. An die Möglichkeit eines filtrierbaren, sich rasch im ganzen Körper verbreitenden Agens mußte gedacht werden, da solche Tumoren bekannt sind.

Daß alle Tumoren — auch die menschlichen — durch ein Virus hervorgerufen werden sollen, wie manche Autoren heute behaupten, ist kaum vorstellbar. Gegen die Ansicht, daß ein lebendes Virus die Ursache aller Geschwülste sei, sprechen gerade die Ergebnisse der Geschwulstforschung der letzten Jahre, wonach es mit den allerverschiedensten chemischen Substanzen und Röntgen- und Radiumstrahlen gelingt, experimentell Geschwülste zu erzeugen. Es ist schwer vorstellbar, für alle diese Fälle die Mitwirkung eines lebenden Virus anzunehmen; es sei denn, daß dieses ubiquitär vorhanden sei, was nicht gerade wahrscheinlich ist. Außerdem ist ja heute noch keinesfalls eindeutig entschieden, daß selbst für das *Roussche* Hühnersarkom ein lebendes Virus als Ursache in Frage kommt. *Tworth* und *Blumenthal* u. a. vermuten, daß eine fermentartige Substanz in den Filtraten des *Rousschen* Hühnersarkoms die Ursache für die Tumorbildung ist.

Bei Verwendung aller dieser bisher genannten transplantablen Geschwülste könnte man dem experimentellen Forscher den Vorwurf machen, daß seine Untersuchungsbedingungen an solchen Tieren nicht den Bedingungen am Menschen entsprechen. Der Krebs des Menschen ist zweifellos kein lokales Leiden, wie es die meisten Transplantattumoren wenigstens in den ersten Stadien der Entwicklung darstellen, und selbst bei dem metastasierenden Kaninchencarcinom liegen ganz andere Bedingungen als beim Menschen vor; beim Kaninchen pflanzen wir das Krebsgewebe in einen normalen gesunden Organismus ein, hingegen entwickelt sich in der Regel beim Menschen ein Tumor erst, wenn der Mensch altert und seine normalen Widerstandskräfte erlahmen. Einige Forscher haben im Gegensatz zu anderen das Auftreten des Krebses in Zusammenhang bringen wollen mit dem Erlöschen der Funktionen gewisser innersekretorischer Drüsen, namentlich der Keimdrüsen, ohne aber bisher dafür exakte Grundlagen erbringen zu können. Man weiß zwar, daß Hodencarcinome gewöhnlich ganz besonders bösartig sind, daß Tumoren der Bauchhöhle, z. B. Carcinome des Magen-Darm-Tractus, der Gallenwege, aber auch Mammacarcinome usw., eine bevorzugte Metastasierung in beiden Ovarien zeigen (*Krukenberg-Tumoren*). *Zondek* und *Hartoch* behaupten, daß Prolan, das Hormon des Hypophysenvorderlappens, einen hemmenden Einfluß auf das Tumorstadium ausübt. Als geklärt aber sind die Zusammenhänge zwischen Tumorstadium und der fördernden oder antagonistischen Funktion der zahlreichen innersekretorischen Drüsen noch keinesfalls anzusehen. Exakte experimentelle Unterlagen fehlen auf diesem Gebiet noch ganz. Solange diese aber fehlen und es nicht einmal gelingt, bei den wahrscheinlich leichter beeinflussbaren, nicht metastasierenden Transplantationsgeschwülsten einen Erfolg zu erzielen, haben wir m. E. keine Gewähr, hier auf Erfolge beim Menschen hoffen zu dürfen.

Andererseits hestreitete man allgemein sogar, daß es erlaubt sei, aus erfolgreichen experimentellen Versuchen an Transplan-

tationstumoren Schlüsse für den Menschen zu ziehen. Man leugnet, daß es möglich sei, die an Tieren mit Transplantationsgeschwülsten erhobenen Befunde über Resistenzerscheinungen auf den Menschen zu übertragen. Der vom Krebs befallene menschliche Organismus sei zu keiner dieser Reaktionen mehr imstande. Und doch sind m. E. die am Tier in dieser Beziehung erhobenen Befunde für unsere ganze Auffassung vom Krebs nicht ohne Bedeutung.

Daß Tiere eine Resistenz oder „Immunität“ gegen Krebs erwerben können, haben *Jensen*, *Ehrlich* und *Apolant* zuerst nachgewiesen. Sie stellten fest, daß nach Vorimpfung mit einem avirulenten Tumorstamm eine nachfolgende Impfung mit einem virulenten Stamm nicht mehr anging. Die Erklärung dieser Erscheinung jedoch durch die sogenannte „athreptische Immunität“ nach *Ehrlich-Apolant* ist nicht haltbar. *Ehrlich* und *Apolant* vertraten die Ansicht, daß auch der avirulente Tumor dem Körper so viele für das Tumorstadium notwendige Substanzen entziehe, daß dann auch kein Wachstum eines virulenten Tumors mehr möglich sei. Diese Anschauung wurde jedoch durch zahlreiche spätere Beobachtungen und Experimente widerlegt. *Michaëlis* stellte fest, daß die von *Ehrlich* gemachte Beobachtung nicht für alle Tumoren zutrifft, sondern daß es wohl möglich war, bei Tieren mit einem wenig rasch wachsenden Tumor noch einen zweiten Tumor zum Anwachsen zu bringen. Ferner konnte *Uhlenhuth* zeigen, daß nach der operativen Entfernung des *Jensen*-Sarkoms bei der Ratte, auch nach radikaler Entfernung des zuerst eingepfunden Tumors, es nicht mehr gelingt, diesen Tumor noch einmal zum Anwachsen in demselben Organismus zu bringen. Die beobachteten sogenannten Immunitätserscheinungen aber waren scheinbar nicht streng spezifisch, denn die mit einem bestimmten Mäusecarcinomstamm an Mäusen künstlich erzeugte „Immunität“ verhinderte nicht nur das Angehen dieses Stammes, sondern auch das Anwachsen anderer virulenter Tumoren, nicht nur von Carcinomen, sondern auch von Sarkomen.

Bei Verwendung aller dieser bisher genannten transplantablen Geschwülste könnte man dem experimentellen Forscher den Vorwurf machen, daß seine Untersuchungsbedingungen an solchen Tieren nicht den Bedingungen am Menschen entsprechen. Der Krebs des Menschen ist zweifellos kein lokales Leiden, wie es die meisten Transplantattumoren wenigstens in den ersten Stadien der Entwicklung darstellen, und selbst bei dem metastasierenden Kaninchencarcinom liegen ganz andere Bedingungen als beim Menschen vor; beim Kaninchen pflanzen wir das Krebsgewebe in einen normalen gesunden Organismus ein, hingegen entwickelt sich in der Regel beim Menschen ein Tumor erst, wenn der Mensch altert und seine normalen Widerstandskräfte erlahmen. Einige Forscher haben im Gegensatz zu anderen das Auftreten des Krebses in Zusammenhang bringen wollen mit dem Erlöschen der Funktionen gewisser innersekretorischer Drüsen, namentlich der Keimdrüsen, ohne aber bisher dafür exakte Grundlagen erbringen zu können. Man weiß zwar, daß Hodencarcinome gewöhnlich ganz besonders bösartig sind, daß Tumoren der Bauchhöhle, z. B. Carcinome des Magen-Darm-Tractus, der Gallenwege, aber auch Mammacarcinome usw., eine bevorzugte Metastasierung in beiden Ovarien zeigen (*Krukenberg-Tumoren*). *Zondek* und *Hartoch* behaupten, daß Prolan, das Hormon des Hypophysenvorderlappens, einen hemmenden Einfluß auf das Tumorwachstum ausübt. Als geklärt aber sind die Zusammenhänge zwischen Tumorwachstum und der fördernden oder antagonistischen Funktion der zahlreichen innersekretorischen Drüsen noch keinesfalls anzusehen. Exakte experimentelle Unterlagen fehlen auf diesem Gebiet noch ganz. Solange diese aber fehlen und es nicht einmal gelingt, bei den wahrscheinlich leichter beeinflussbaren, nicht metastasierenden Transplantationsgeschwülsten einen Erfolg zu erzielen, haben wir m. E. keine Gewähr, hier auf Erfolge beim Menschen hoffen zu dürfen.

Andererseits bestreitet man allgemein sogar, daß es erlaubt sei, aus erfolgreichen experimentellen Versuchen an Transplan-

Abwehrkräfte des Organismus führen, nicht dann, wenn sie zu einer Erschöpfung der Funktionen des Reticulo-Endothels führen. Auch bei den Versuchen zur Erzeugung des Teercarcinoms sahen wir nach einer vorübergehenden verstärkten Reaktion des Reticulo-Endothels vor dem Auftreten des Tumors ein Versagen der Abwehrfunktion dieses Systems, morphologisch erkennbar an einer hochgradigen Milzatrophy und bei Teerkaninchen nicht selten an dem Vorhandensein einer Leberzirrhose. *Fischer-Wasels* und *Büngler* haben eindringlich auf die Bedeutung der Allgemeinschädigung hingewiesen, die die Krebs erzeugenden Substanzen wie Teer, Indol usw. hervorrufen. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch beim Menschen im Alter durch Rückbildung dieser Organe die Tumordisposition erhöht wird. Bei Anilinarbeitern scheint das Blasenkarcinom zeitlich um so früher nach dem ersten Insult aufzutreten, je älter der Mensch war, als er zum erstenmal der Schädigung ausgesetzt wurde. M. E. verbirgt sich vieles, was wir heute hinter dem nicht faßbaren Begriff der Disposition vermuten, in der Reaktionsfähigkeit des Reticulo-Endothels der betreffenden Individuen.

Oh jedoch unspezifische Reizwirkungen und Reaktionen die alleinige und entscheidende Ursache der sogenannten „Tumorimmunität“ sind, erscheint mir sehr fraglich. Denn nach meinen experimentellen Erfahrungen ist der Schutz eines spezifisch vorbehandelten Organismus wesentlich stärker als der eines nur unspezifisch vorbehandelten. Es ist bereits darauf hingewiesen worden, daß zur erfolgreichen Überpflanzung von Transplantationsgeschwülsten allgemein eine erstannlich große Zahl von Zellen nötig ist, um eine gute Impfausbeute zu erzielen. Impft man hingegen Mäuse subkutan, intramuskulär oder intraperitoneal mit einer Dosis, die nicht zum Angehen des Tumors führt, so sind die so behandelten Mäuse etwa 14 Tage später und oft über viele Monate hinaus vollkommen geschützt gegen jede Nachimpfung mit sehr reichlichem Tumormaterial, was in diesem Ausmaß bei einer unspezifischen Vorbehandlung nie der Fall ist.

Deshalb sprach schon *Ehrlich* von einer Panimmunität bei Geschwülsten.

Ja, später stellte sich sogar heraus, daß man zur Verbehandlung nicht einmal Geschwulstzellen zu verwenden brauchte, sondern ähnliche Reaktionen auch durch Injektion von Blutkörperchen, Embryonalzellen, Milzzellen usw. auslösen konnte. So wurde man auf die Bedeutung einer unspezifischen Wirkung von Gewebszellen für das Tumorerwachsen aufmerksam. Wir selbst konnten in unserem Laboratorium Mäusestämme beobachten, die sich gegen eine Impfung mit dem *Ehrlichschen* Carcinom als weitgehend resistent erwiesen. Es gelang uns, den Nachweis zu erbringen, daß diese Resistenz durch latente Infektion mit *Mäusetyphusbazillen*, *Paratyphusbazillen* oder *Gärtner-Bazillen* bedingt war. Auch Mäuse mit Sarkosperidien in der Muskulatur sowie Mäuse in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft erwiesen sich in der Regel als „immun“ gegen das *Ehrlichsche* Impfcarcinom. Auch bei Ratten konnten wir analoge Beobachtungen machen, latent mit *Gärtner-Bazillen* infizierte Ratten waren in der Regel resistent gegen eine Impfung mit dem *Jensen-Sarkom*.

Bei allen Infektionen, die zu einer verstärkten Reaktion des Reticulo-Endothels führten, zeigten die Tiere einen erhöhten Schutz gegen Transplantattumoren. *Teuschländer* sah bei Hühnern, die eine Tuberkulose hatten, eine herabgesetzte Empfänglichkeit der Tiere für das *Rous-Sarkom*.

Diese Beobachtungen am Tier geben uns auch eine Erklärung für die seit langem bekannte klinische Beobachtung, daß z. B. ein Erysipel auch beim Menschen zur Heilung eines bösartigen Tumors führen kann. *Coley* machte auf die Wirkung von Bakterientoxinen aufmerksam. Auch die von *Löffler*, *Braunstein* u. a. gemachte Feststellung, daß Menschen mit Malaria relativ selten an Carcinom erkranken, gehört wahrscheinlich hierher. Natürlich werden die Malaria und andere Infektionen nur solange antagonistisch gegen eine Tumorentstehung wirken, solange sie zu einer allgemeinen Erhöhung der „anticarcinomatösen“

günstigen Heilerfolge *Ficheras* mit Extrakten aus antiblastischen Geweben. *Fichera* ist der Überzeugung, daß er in einem krebserkrankten Organismus nur noch sehr schwer eine Reaktion auslösen kann, wie sie z. B. beim tumorfreien Tier durch Vorbehandlung und beim Transplantattumor im Beginn des Wachstums erzielt werden kann. Er führt deshalb die Substanzen, die in dem Reticulo-Endothel junger Organismen vorhanden sind und deren Bedeutung für die erhöhte Widerstandsfähigkeit eines Individuums uns auch experimentell begründet erscheint, dem nicht mehr reaktionsfähigen Organismus zu. Die klinischen und histologisch an Probeexzisionen verfolgbaren Erfolge, die *Fichera* auf Grund jahrzehntelanger intensivster Studien mit einer Konsequenz am krebserkrankten Menschen durchgeführt hat wie keiner außer ihm, dürften heute kaum noch bezweifelt werden können. *Ficheras* Ansichten und Erfahrungen über den menschlichen Krebs sind durch ihn und seine Schüler auch experimentell gestützt und die Ergebnisse am Menschen schon heute von vielen Seiten bestätigt worden, wie z. B. von *Maisin, Pourbaix, Vassidialis, De Gactani, Verseci, Marinucci, Rosenstein, Kohler, Susmann* u. a.

Machen uns die Studien an den transplantablen Tiergeschwülsten einen Einblick in das komplexe Geschehen beim Krebswachstum möglich, so überzeugen uns andererseits vergebliche Versuche mit chemotherapeutisch wirksam sein sollenden Präparaten an den transplantablen Geschwülsten ganz sicher von der Nutzlosigkeit des Beginnens, mit den bisher in der Literatur genannten Schwermetallverbindungen wie Blei usw. sowie zahlreichen anderen Verbindungen Heilungen erzielen zu wollen.

Ich habe alle mir aus der Literatur bekannten und zugänglichen chemischen Verbindungen auf ihre Wirkung bei transplantablen Geschwülsten nachgeprüft und mich weder von der Wirkung der als wirksam beschriebenen Produkte überzeugen, noch bei Prüfung zahlreicher anderer Verbindungen einen Anhalt für eine Wirkung erkennen können. Ebensowenig wie wir heute in

Noch überzeugender sprechen m. E. für einen spezifischen Faktor bei der Erzeugung der „Tumorimmunität“ Versuche bei Kaninchen. Eine einmalige vergebliche Transplantation eines kleinen Tumorstückchens in den Hodensack oder die Injektion einer kleinen Menge Tumorbrei in den Hodensack von Kaninchen genügt nach unseren Beobachtungen, um die Tiere über 1 Jahr hinaus vor dem Angehen einer Impfung mit reichlich virulentem Tumormaterial des so stark zu Metastasierung neigenden *Brown-Pearce*-Tumors zu schützen. Diesen zuverlässigen Schutz der Tiere zu erzeugen, gelingt weder durch die analoge Transplantation oder Injektion von Milz, Leber, Blut usw. Wir haben bei Betrachtung des *Brown-Pearce*-Tumors schon darauf hingewiesen, daß bei mittlerer Virulenz des Tumors die besten Impfausbeuten bei Impfungen des Tumors in den Hoden erzielt wurden. Impft man hingegen nicht in den Hoden selbst, sondern nur in den Hodensack, so kommt es nur zu einer vorübergehenden Schwellung an der Injektionsstelle, die oft einen Tumor vortäuschen kann; sehr bald kommt es jedoch zu einer Abkapselung der eingebrachten Tumorzellen durch Granulationsgewebe und zu einer völligen Resorption.

Der Versuch, den Menschen aktiv gegen Tumoren zu „immunisieren“, ist m. E. daran gescheitert, daß man versuchte, Menschen, die bereits Träger großer Tumoren waren, zu immunisieren. Das gelingt auch im Tierexperiment nicht mehr. Ferner versuchte man die Immunisierung am Menschen mit Tumorauslysaten durchzuführen. Das ist jedoch unmöglich, da auch Autolysate schon im Experiment sich als unwirksam erwiesen. Vor der Verwendung eines zellhaltigen, frischen Tumormaterials jedoch mußte man zurückschrecken, da man in einzelnen Fällen bei Verwendung noch virulenten zellhaltigen Materials die Entstehung von Tumoren an der Injektionsstelle beobachtete.

Aus diesen Beobachtungen heraus werden uns aber auch Vorgänge verständlich, die wir experimentell an den Transplantationstumoren nicht mehr ganz erfassen können, wie z. B. die

günstigen Heilerfolge *Ficheras* mit Extrakten aus antiblastischen Geweben. *Fichera* ist der Überzeugung, daß er in einem krebskranken Organismus nur noch sehr schwer eine Reaktion auslösen kann, wie sie z. B. beim tumorfreien Tier durch Vorbehandlung und beim Transplantattumor im Beginn des Wachstums erzielt werden kann. Er führt deshalb die Substanzen, die in dem Reticulo-Endothel junger Organismen vorhanden sind und deren Bedeutung für die erhöhte Widerstandsfähigkeit eines Individuums uns auch experimentell begründet erscheint, dem nicht mehr reaktionsfähigen Organismus zu. Die klinischen und histologisch an Probeexzisionen verfolgbaren Erfolge, die *Fichera* auf Grund jahrzehntelanger intensivster Studien mit einer Konsequenz am krebskranken Menschen durchgeführt hat wie keiner außer ihm, dürften heute kaum noch bezweifelt werden können. *Ficheras* Ansichten und Erfahrungen über den menschlichen Krebs sind durch ihn und seine Schüler auch experimentell gestützt und die Ergebnisse am Menschen schon heute von vielen Seiten bestätigt worden, wie z. B. von *Maisin, Pourbaix, Vassidialis, De Gactani, Verseci, Marinucci, Rosenstein, Köhler, Susmann* u. a.

Machen uns die Studien an den transplantablen Tiergeschwülsten einen Einblick in das komplexe Geschehen beim Krebswachstum möglich, so überzeugen uns andererseits vergebliche Versuche mit chemotherapeutisch wirksam sein sollenden Präparaten an den transplantablen Geschwülsten ganz sicher von der Nutzlosigkeit des Beginnens, mit den bisher in der Literatur genannten Schwermetallverbindungen wie Blei usw. sowie zahlreichen anderen Verbindungen Heilungen erzielen zu wollen.

Ich habe alle mir aus der Literatur bekannten und zugänglichen chemischen Verbindungen auf ihre Wirkung bei transplantablen Geschwülsten nachgeprüft und mich weder von der Wirkung der als wirksam beschriebenen Produkte überzeugen, noch bei Prüfung zahlreicher anderer Verbindungen einen Anhalt für eine Wirkung erkennen können. Ebenso wenig wie wir heute in

Noch überzeugender sprechen m. E. für einen spezifischen Faktor bei der Erzeugung der „Tumorimmunität“ Versuche bei Kaninchen. Eine einmalige vergebliche Transplantation eines kleinen Tumorstückchens in den Hodensack oder die Injektion einer kleinen Menge Tumorbrei in den Hodensack von Kaninchen genügt nach unseren Beobachtungen, um die Tiere über 1 Jahr hinaus vor dem Angehen einer Impfung mit reichlich virulentem Tumormaterial des so stark zu Metastasierung neigenden *Brown-Pearce*-Tumors zu schützen. Diesen zuverlässigen Schutz der Tiere zu erzeugen, gelingt weder durch die analoge Transplantation oder Injektion von Milz, Leber, Blut usw. Wir haben bei Betrachtung des *Brown-Pearce*-Tumors schon darauf hingewiesen, daß bei mittlerer Virulenz des Tumors die besten Impfabtanten bei Impfungen des Tumors in den Hoden erzielt wurden. Impft man hingegen nicht in den Hoden selbst, sondern nur in den Hodensack, so kommt es nur zu einer vorübergehenden Schwellung an der Injektionsstelle, die oft einen Tumor vortäuschen kann; sehr bald kommt es jedoch zu einer Abkapselung der eingebrachten Tumorzellen durch Granulationsgewebe und zu einer völligen Resorption.

Der Versuch, den Menschen aktiv gegen Tumoren zu „immunisieren“, ist m. E. daran gescheitert, daß man versuchte, Menschen, die bereits Träger großer Tumoren waren, zu immunisieren. Das gelingt auch im Tierexperiment nicht mehr. Ferner versuchte man die Immunisierung am Menschen mit Tumorauslysaten durchzuführen. Das ist jedoch unmöglich, da auch Autolysate schon im Experiment sich als unwirksam erwiesen. Vor der Verwendung eines zellhaltigen, frischen Tumormaterials jedoch mußte man zurückschrecken, da man in einzelnen Fällen bei Verwendung noch virulenten zellhaltigen Materials die Entstehung von Tumoren an der Injektionsstelle beobachtete.

Aus diesen Beobachtungen heraus werden uns aber auch Vorgänge verständlich, die wir experimentell an den Transplantationstumoren nicht mehr ganz erfassen können, wie z. B. die

Experiment wird unter möglichst weitgehender Ausschaltung aller Varianten zu neuen exakten Kenntnissen führen. Auf diesem Wege werden uns auch die Arbeiten mit den transplantablen Tiergeschwülsten weiterbringen. Und erfüllen diese unsere Forderungen nicht mehr, so haben wir heute die Möglichkeit, uns durch Teer, Indol usw. an fast beliebigen Stellen des Tierorganismus bösartige Geschwülste zu erzeugen, in fast analoger Weise, wie solche beim Menschen entstehen. *Grütz*, der sich als einer der besten Kenner sehr eingehend mit der vergleichenden Histogenese des experimentellen und menschlichen Hautkrebses befaßt hat, kommt, wie auch noch zahlreiche andere Autoren, zu dem Ergebnis, daß auffallend viele Analogien vorhanden sind.

Mit Naphthylamin gelingt es, beim Kaninchen in analoger Weise wie beim Menschen Blasenkrebs zu erzeugen, Magencarcinome können wir nach *Fibiger* durch die Spireptera erzeugen, Sarkome durch die Eier der *Taenia crassicollis*. Bei genauer Kenntnis der Histologie dieser Tumoren werden wir die gemeinsamen und die trennenden Merkmale aller dieser Tumoren gegenüber den menschlichen Tumoren richtig deuten und auswerten lernen.

Mit Hilfe der Verwendung transplantabler und experimentell erzeugter Geschwülste gelang es *Warburg* und anderen Forschern, wichtige Einblicke in die Biologie der bösartigen Geschwülste zu tun. *Warburg* konnte feststellen, daß sowohl die tierischen als auch die menschlichen bösartigen Geschwülste sich gegenüber den meisten normalen Geweben durch eine starke anaerobe Glykolyse auszeichnen. Wenn auch die Erwartungen, die an diese Entdeckung geknüpft wurden, nämlich für die Therapie brauchbare Substanzen herauszufinden, nicht in Erfüllung gegangen sind, so hat sie uns einen weiteren bedeutsamen Einblick in das Wesen bösartiger Geschwülste gestattet.

Möglichkeiten, mit den transplantablen und experimentell erzeugbaren Geschwülsten auch für die menschliche Therapie fruchtbare Arbeit zu leisten, haben wir in einem reichlichen

der Lage sind, in der Virusfrage ein entscheidendes dogmatisches Ja oder Nein auszusprechen, ohne die Forschung zu hemmen, ebensowenig werden wir aber trotz allen bisherigen Enttäuschungen auf dem Gebiet der Chemotherapie bösartiger Geschwülste darauf verzichten, immer weiter zu arbeiten und zu forschen.

Auch ist es uns immer wieder bei diesen Versuchen zum Bewußtsein gebracht worden, wie vorsichtig man in der Auswertung solcher Versuche sein muß, wie zahlreiche Fehlerquellen wie z. B. die erwähnten Infektionen usw., ganz falsche Schlüsse verursachen können, wenn man nicht immer und immer wieder neue Kontrollversuche ansetzt. Niemals darf man sich mit dem Ergebnis einer oder zweier Versuche zufrieden geben, auch wenn die Resultate noch so eindeutig erscheinen. Unter Umständen kann bei Transplantationstumoren eine vorübergehende Störung des Befindens, eine Gewichtsabnahme, eine Darmstörung die Entwicklung des Tumors entscheidend beeinflussen, ja bisweilen die Ausbildung ganz verhindern. Das ist bei den meisten Pb-Präparaten der Fall. Eine genaue Kontrolle aller störenden Bedingungen in solchen Versuchen und das Inbetrachtziehen immer neuer möglicher Störungen sind die unablässigen Vorbedingungen beim Arbeiten mit transplantablen Tiergeschwülsten überhaupt. Und dennoch — nur auf diesem Wege ist m. E. ein Fortschritt möglich. Die Klinik allein wird niemals in der Lage sein, zu einem optimal wirksamen Präparat zu kommen, verläuft doch jeder einzelne Fall beim Menschen in besonderer Weise und gestattet keinen direkten Vergleich mit einem anderen. Auf einzelne Mitteilungen von günstigen Beeinflussungen menschlicher Geschwülste kann daher kaum jemals ernstlicher Wert gelegt werden — und viele Irrtümer widerfahren selbst dem Erfahrensten. Nicht vereinzelt ist nach Röntgenbild und Probelaaparotomie die Diagnose in operables Magen-Carcinom gestellt worden; aber die histologische Diagnose fehlte — und der Patient genas überraschend von einem Ulcus. Nur der Reihenversuch, das

Demodex usw. sind. Ich möchte die Vermutung aussprechen, daß diese Schmarotzer und die Eier auch vielleicht deshalb die Geschwulstbildung begünstigen, weil sie außer dem Fremdkörper- und Entzündungsreiz auch bei ihrer Entwicklung aus den Eiern noch durch wachstumsfördernde Substanzen — ebenso wie Embryonalzellen — sowie durch allgemein schädigende Substanzen die Wirtszellen beeinflussen.

Wenn auch die Ursachen der Entstehung aller Geschwülste, sei es durch Reiz, Regeneration, Makroparasiten, Virus, fermentartige Substanzen, wachstumsfördernde Stoffe usw., noch keineswegs restlos aufgeklärt sind, so geben uns die auf die verschiedenste Weise beim Tier künstlich zu erzeugenden Geschwülste so viele Möglichkeiten des experimentellen Arbeitens, daß voraussichtlich alle wesentlichen Fragen auch im Experiment am Tier geprüft werden können. An einem Mangel an brauchbaren Testobjekten brauchen die Fortschritte in der Geschwulsttherapie nicht zu scheitern.

Ausmaß, und sollten in diesem oder in jenem Fall für besondere kritische Entscheidungen auch diese zur experimentellen Forschung zur Verfügung stehenden Tiergeschwülste noch nicht ausreichen, so können wir zu den zwar allgemein nicht häufigen, aber doch für besondere Fälle immer erreichbaren, auch bei Tieren auftretenden Spontangeschwülsten unsere Zuflucht nehmen. Ganz besonders beachtlich erscheint mir die Tatsache, daß bei sehr vielen Spontantumoren der Tiere höher stehende Parasiten, namentlich Würmer und deren Eier, in den Tumoren gefunden werden können. Wir erwähnten bereits die Möglichkeit, experimentell durch Eier der *Taenia crassicolis* bei Ratten Sarkome zu erzeugen, durch die *Spiroptera neoplastica* die *Fibigerschen* Magencarcinome. Nematoden und Cestoden sind bei der Maus in cystischen Adenomen und im Carcinom der Mamma gefunden worden. Auch häufiges Vorkommen von Krebs bei Pferden wird mit dem Vorkommen von Sklerostomen in Zusammenhang gebracht. Ich glaube deshalb, daß sowohl das Teercarcinom sowie die durch die erwähnten Parasiten künstlich zu erzeugenden Geschwülste schon eine sehr enge Beziehung zu den seltenen Spontangeschwülsten haben und deshalb auch für notwendige Reihenversuche unbedenklich herangezogen werden können. Fraglos stehen sie auch schon einigen auch beim Menschen zu beobachtenden Tumoren sehr nahe. Wir wissen, daß beim Menschen, in dessen Blasenwand Bilharziaparasiten oder dessen Eier angehäuft sind, sich Carcinome und Sarkome entwickeln. *Kartulis* beobachtete beispielsweise schon bei zehn unter dreihundert Bilharziapatienten Blasenkrebs. Es besteht die Möglichkeit, daß auch noch bei anderen Carcinomen des Menschen, namentlich denen des Darmtractus, Parasiten eine viel größere Rolle spielen als allgemein angenommen wird. *Borrel* vermutete wegen des häufigen Auftretens von Parasiten in tierischen Spontantumoren oder deren Umgebung, daß die Geschwülste durch Infektion mit einem noch unbekannten Virus entstehen, dessen Träger die genannten Schmarotzer wie Nematoden, Cestoden, Taenien, Acarus,

bedingten chronischen Veränderungen und ihren pathologisch-anatomischen Ausdruck beschrieben, ohne dabei das sie auslösende, mehr oder minder reaktiv verwandelte Krankheitsgeschehen selbst zu schildern. Jetzt wird das nachzuholen sein auf Grund der in den letzten Jahren in unseren Laboratorien durchgeführten experimentellen Untersuchungen. Dabei soll gezeigt werden, wie ein bestimmter Krankheitskeim ein ganz andersartiges und von dem üblichen abweichendes Krankheitsbild hervorrufen kann, wenn er nach einem bestimmten Intervall von neuem denselben Körper wiederum befällt. Wir gehen bei diesen Betrachtungen aus von Untersuchungen über die Entstehung der verschiedenen Ablaufsformen der Tuberkulose.

Wohl der wesentlichste Einwand, den die Zeitgenossen gegen die Kochsche Behauptung von der ursächlichen Bedeutung des Tuberkelbazillus ins Feld führten, war der, daß es unerklärlich sei, wie eine Bazillenart so verschiedenartige Krankheitsbilder wie Phthise, käsige Pneumonie und Miliartuberkulose hervorrufen könne.

Orth konstatiert zwar, „daß sowohl die akute allgemeine Miliartuberkulose sich häufig an Lungenphthise anschließt, als auch zu akuter Miliartuberkulose der Lunge Prozesse, die in das Bereich der Phthise gehören, sich hinzugesellen können, andererseits, daß experimentell durch die gleichen infizierenden Stoffe von phthisischer bzw. tuberkulöser Herkunft sowohl akute allgemeine Miliartuberkulose als auch phthisische Prozesse in den Lungen erzeugt werden können; sonach müssen enge ätiologische Beziehungen zwischen beiden Affektionen bestehen derart, daß aus Tuberkulose Phthisis und aus Phthise Tuberkulose entstehen kann, daß beide also nur als verschiedene Wirkungsformen des gleichen Giftes anzusehen seien“.

Damit tritt aber um so klarer die Frage hervor, wie es möglich ist, daß ein und dieselbe Bakterienart verschiedenartige Krankheitsbilder hervorrufen kann. Die Erklärung dieser paradoxen

Allergie und Infektionsablauf

PROF. DR. R. BIELINO

Aus der Sero-bakteriologischen Abteilung „Bayer-Meister Lucius-Behringwerke“
Hochst-Marburg

Im ersten Band dieses Buches berichtete ich im Anschluß an frühere Untersuchungen aus unseren Laboratorien über die Bedeutungen der Immunität für den Krankheitsablauf. Im Mittelpunkt standen dabei Beobachtungen über den Ablauf der septischen Erkrankungen überhaupt, die inzwischen in einer mehr abgerundeten Form als Band III der *Behring-Bücherei* erschienen sind.

Die Schilderung der sich mehrfach wiederholenden — chronischen oder rezidivierenden — Infektionen führte dann zwangsläufig zur Darstellung jener Erkrankungen, die durch die allergische Reaktion des Körpers auf das wiederholte Eindringen von Krankheitserregern gleicher Art in den Kreislauf eines Warmblüters entstehen. So wurden die „rheumatischen“ Erkrankungen, die durch Veränderungen am Myocard, am Endocard und an den Gelenken einschließlich des umgebenden Gewebes charakterisiert sind, als durch allergische Reaktion im vorbehandelten Körper entstanden und bedingt erkannt und in ihrer Entwicklung am Beispiel des Serumpferdes geschildert. Damit ist bereits ein wesentliches, scharf umrissenes Kapitel aus dem durch die Überschrift umgrenzten Thema dargestellt.

Diese früher beobachteten Vorgänge sind dadurch charakterisiert, daß sie durch jedes Antigen, hektes und unbelehtes, ausgelöst werden können, wenn es nur mehrfach in den Kreislauf eindringt. Soweit es sich um lebende krankheitserregende Mikroorganismen handelt, hatten wir dabei nicht die Abwandlungen betrachtet, die das „normale“ Krankheitsgeschehen, wie es beim ersten Kranksein in Erscheinung tritt, in dem ein- oder mehrfach vorinfizierten Körper erfährt; sondern wir hatten lediglich die durch die immer wiederholte Abwehrreaktion des Körpers

zurückführen kann; denn eine solche Vorbehandlung mit totem oder auch mit avirulentem Material ruft für sich allein praktisch keine oder nur ganz geringgradige und spontan wieder zurückgehende kleine herdförmige Veränderungen hervor.

Das Charakteristische der Zweitinfektion wenige Wochen nach einer präparierenden Vorinfektion ist das stürmische Einsetzen von Krankheitsercheinungen schon in den ersten Stunden nach der Zufuhr der Zweitinfektionskeime.

Es entwickeln sich rasch ausgedehnte exsudative und später infiltrative Veränderungen, die entweder das ganze neu-gefallene Organ betreffen oder die weitere Umgebung des Ortes der Zweitinfektion.

Diese Frühreaktion ist das eine besonders scharf ausgeprägte Merkmal des Krankheitsablaufs einer Zweitinfektion mit *Koch*-Bazillen, welche den Körper in einem bestimmten Abstand von der homologen Erstinfektion trifft. Bei der intratrachealen Reinfektion lassen sich die der Frühreaktion entsprechenden Frühinfiltrate (*Redeker*) auch im Röntgenbild beim Versuchstier verfolgen, und wenn man die Zweitinfektion in die Vorderkammer setzt, so kann man die der Frühreaktion zugrunde liegenden pathologischen Vorgänge durch das Fenster der Cornea ohne weiteres oder mit der Spaltlampe fortlaufend verfolgen.

Im übrigen aber stützten sich diese Untersuchungen über die Bedeutung der spezifischen allergischen Phänomene für die Phthysiogenese auf Reihenversuche, in denen die spontan eingehenden oder in bestimmten Intervallen getöteten Versuchstiere anatomisch untersucht wurden. Beim Vergleich der Reihen der einfach- und doppeltinfizierten Tiere ergiebt sich dann das zweite charakteristische Merkmal des Ablaufs der Zweitinfektion. Die Erscheinungen der Frühinfiltration, die wegen ihres stürmischen Einsetzens ihrer Ausdehnung und Dichte einen ungünstigen Verlauf der Erkrankung erwarten ließen, werden im Verlauf von wenigen Wochen mehr und mehr zur Auflösung gebracht und die anfänglich so bedrohlich aussehende Erkrankung kommt zur Ausheilung.

Erscheinung geht aus von den Versuchen *Behrings* und *Roemers* an tuberkulösen Meerschweinchen, an welche sich unsere Versuche anschlossen. Sie wurden in erster Linie an Kaninchen ausgeführt, aber auch an anderen Tieren kontrolliert. Die *Koch*-Bazilleninfektionen mit kaninchenpathogenen, bovinen Bazillen von der Art und Desierung, wie wir sie wählten, und intravenös, also direkt in die Blutbahn gesetzt, ruft beispielsweise in den Lungen der Tiere in den ersten Tagen überhaupt noch keine sichtbaren Veränderungen hervor. Erst vom Ende der ersten Woche ab sieht man winzige graue Herdchen an den Ansiedlungsstellen sich bilden, die aber nur langsam weiterwachsen. Die ganze Lunge ist sonst unverändert, d. h. zwischen den kleinen Herdchen ist das Lungengewebe völlig normal. Ähnliches sieht man in Leber, Milz und Niere. In den folgenden Wochen wachsen dann die Ansiedlungsherde rascher und rascher, aber immer noch nimmt das dazwischenliegende Gewebe keinen Anteil an diesem Geschehen. Die immer größer werdenden und im Innern zerfallenden Herde liegen isoliert, umgeben von gesundem Gewebe. Dann aber schreitet das Krankheitsgeschehen, das so langsam und zögernd begann, rapid vorwärts. Die Herde wachsen und fließen zusammen, exsudative Erscheinungen kommen hinzu und in relativ kurzer Zeit ist die ganze Lunge erkrankt und die Tiere gehen zugrunde mit Lungen, die fast keine atmenden Alveolen mehr enthalten.

Geradezu entgegengesetzt ist der Krankheitsablauf bei den Tieren, die man etwa drei Wochen vor der gleichen Infektion vorbehandelt hat, indem man sie mit *Koch*-Bazillenmaterial vorinfizierte. Es ist naturgemäß notwendig, diese Vorinfektion so zu dosieren, daß sie nicht allein schon innerhalb der Versuchszeit zu einer schweren, im Endstadium stehenden Erkrankung führt.

Man kann zur Vorbehandlung auch avirulente *Koch*-Bazillen wählen, ja, selbst tote Bazillen, was den Vorteil hat, daß man dann mit Sicherheit die auf die Reinfektion folgenden Erscheinungen auf die Wirkung der zu zweit zugeführten Keime

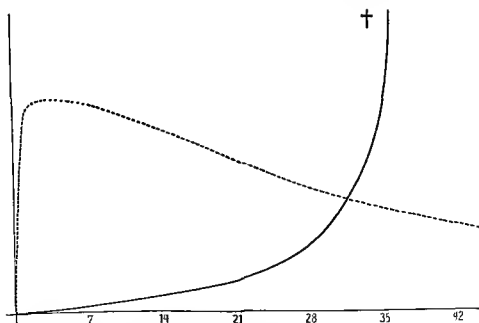
Man sieht bei ersterem den langsamen, zögernden Beginn und das dann nach Wochen einsetzende rasche Hochschnellen bis zum Tode des Tieres; beim vorbehandelten Tier dagegen wird der Gipfel der Krankheitssehwe re gleich im Beginn erreicht und dann sinkt die Krankheit langsam. Die beiden Linien schneiden sich schließlich, in unseren Versuchen etwa nach der 3. bis 4. Woche, und in dem einen Fall kommt es zum rasch eintretenden Krankheitsstod, im anderen zur immer weiter fortschreitenden Ausheilung.

Wegen der Einzelheiten der histologischen Analyse des gesamten Krankheitsgeschehens und der sich auch im Laufe der einfachen Infektion einstellenden allergischen Komplikation muß auf die eingehende Darstellung mit *Schwartz* verwiesen werden. Die Schilderungen hier beruhen auf dem Versuchsergebnis einer Frankfurter Arbeitsgemeinschaft, an der in besonders maßgebender Weise *Ph. Schwartz* durch seine anatomischen Untersuchungen beteiligt war. Herr *Metzger* verfolgte die Erscheinungen der Reinfektion am Auge durch das Fenster der Cornea fortlaufend mit der Spaltlampe. Herr *Weber* von der Kinderklinik untersuchte mit der Röntgendurchleuchtung kontinuierlich den Krankheitsablauf am Kaninchen. Herr *Hofmann* von der Hautklinik untersuchte die Hautveränderungen bei lokal infizierten Tieren, während die weiter sich anschließenden Versuche, über die hier berichtet wird, hauptsächlich von Fräulein *Oelrichs* in den Höchster und Marburger Laboratorien der I. G.-Behring-Werke durchgeführt wurden.

Diese Untersuchungen, insbesondere diejenigen von *Schwartz*, gaben uns ein klares Bild über die von den Gefäßen ausgehende Reaktion und die sich anschließenden exsudativen Veränderungen. Was aber denjenigen, der dieses Krankheitsgeschehen als Hygieniker und Bakteriologo und von der Seite der Infektionslehre aus betrachtet, besonders interessiert, ist die Tatsache, daß die durch den gefürchteten Bakterienkeim hervorgerufenen Krankheitserscheinungen trotz ihres raschen Auftretens

Die an das vaskuläre Phänomen der Frühreaktion anschließenden Exsudationen und Zellinfiltrate werden resorbiert. Die Hepatisationen zerfallen und zerbröckeln. Bakterienherde, die zu Gewebszerfall und Zerstörung führen, sind offenbar infolge der allergischen Reaktion nicht zustande gekommen. Die alte Organstruktur, die durch den im wesentlichen reaktiven Krankheitsprozeß nicht zerstört wurde, tritt dann mit dem Fortschreiten des Resorptionsvorganges mehr und mehr wieder hervor. Zu dem Zeitpunkt, in dem die einfach infizierten Tiere dem zuerst langsam und dann immer rascher fortschreitenden Krankheitsprozeß erliegen, schreitet hier bei den vorinfizierten Tieren der Heilungsprozeß immer weiter fort. Die Tiere überleben und man findet schließlich nur noch mehr oder minder unbedeutende Reste der früher so ausgebreiteten Erkrankung.“

Wenn man sich den Krankheitsablauf oder vielmehr die Schwere der Krankheit in Kurvenform darstellt, so entstehen Bilder wie das folgende, bei dem die ausgezogene Linie den Ab-



lauf der einfachen Infektion beim nicht vorbehandelten Tier, die gestrichelte Kurve den Ablauf beim vorbehandelten Tier darstellt.

nämlich Staphylokokken, einspritzten und deren Ausscheidung aus dem Blute fortlaufend bestimmten, was technisch relativ einfach ist. Im einzelnen wurde dabei folgendermaßen vorgegangen:

Kaninchen wurden in den Hoden mit der für sie avirulenten humanen Kultur T. R. infiziert (0,1/1:25) und nach 3 Wochen mit demselben Stamm 0,5/1:500 intravenös superinfiziert. Die Infektion mit Staphylokokken wurde verschieden lange Zeit nach dieser schockauslösenden zweiten Tuberkelbazilleninfektion gesetzt, und zwar nach 3, 5, 24 und 48 Stunden sowie nach 4 und 11 Tagen. Bei allen diesen Tieren wurde nun anschließend an die Staphylokokkeninfektion der Keimgehalt des Blutes fortlaufend alle 5 Minuten und später in längerem Intervall bestimmt. Zu diesem Zweck wurde den Versuchstieren jedesmal etwas Blut aus der Ohrvene entnommen und eine Öse davon mit Blutagar zur Platte ausgegossen. Die Anzahl der dann gewachsenen Staphylokokkenkolonien zeigte die Anzahl der zum Zeitpunkt der Untersuchung im Blut kreisenden lebenden Staphylokokken an.

Bei nicht vorbehandelten Kontrolltieren fand man in der ersten Zeit nach der Injektion äußerst zahlreiche Keime in einer Öse des Blutes, so daß die Bestimmung der Keimzahl vielfach überhaupt nicht mehr möglich war. Bei den Tieren jedoch, welche den Infektionsschock der Reinfektion durchgemacht hatten, nahm die Keimzahl im Blute relativ rasch ab.

Die Ergebnisse der einzelnen Versuche zeigen die folgenden Tabellen:

Blut- ent- nahme	nach 3 Stunden		nach 5 Stunden		Kontrollen	
	C 89	C 90	C 91	C 92	C 195	C 196
5 Min.	316	170	85	154	unzählbar +++	unzählbar ++
10 Min.	50	34	101	108	122	103
15 Min.	75	79	70	155	228	130
20 Min.	100	39	78	62	160	157
25 Min.	154	65	161	63	120	284
30 Min.	19	98	95	75	237	95
1 Std.	40	92	50	57	65	163

und ihrer erheblichen Ausdehnung eine Tendenz zur Ausheilung zeigen hzw. völlig ausheilen. Das kann nur so erklärt werden, daß die zerstörenden und einschmelzenden Kräfte der zweit-infizierenden virulenten *Koch*-Bazillen durch die Reaktion, welche ihrer Invasion folgt, gebrochen werden, oder daß die Eindringlinge trotz ihrer Giftigkeit unschädlich gemacht, gelöst oder rasch wieder ausgeschieden werden.

Es war nun *Schwartz* bei der Durchsicht der Lungenschnitte der doppeltinfizierten Tiere aufgefallen, daß die bei den Erst-infizierten reichlich auffindbaren Bakteriennester an den Ansiedlungsstellen hier vermißt wurden. Es wurde daher versucht, festzustellen, ob die Ausscheidungsgeschwindigkeit von intravenös injizierten Krankheitskeimen bei der Reinfektion rascher und intensiver verläuft als bei Erstinfizierten. Wir haben derartige Versuche mit anderen Bakterien und im anderen Zusammenhang mehrfach ausgeführt, indem wir fortlaufend bei den infizierten Tieren kleine Blutmengen entnahmen und durch Züchtungsmethoden die darin enthaltene Menge von lebenden Einzelkeimen zahlenmäßig bestimmten. Diese Methode war jedoch hier technisch nicht durchführbar, einmal deshalb, weil der Tuberkelbazillus, wenn man ihn aus Kulturen gewinnt, niemals so fein in Aufschwemmung zu verteilen ist, daß alle Individuen wirklich einzeln liegen. Es werden stets Häufchen bleiben, die dann bei Weiterverimpfung auch nur eine Kolonie auf dem Nährboden bilden, wie ein einzelner Keim auch. Die Kolonienzahl entspricht also nicht der Zahl der in dem untersuchten Blut enthaltenen Einzelkeime, sondern der Zahl der Bakterienflöckchen, die verschiedene Keimmengen enthalten. Außerdem sind unsere künstlichen Züchtungsmethoden des *Koch*schen Bazillus auf festem Nährboden nicht so günstig, daß man annehmen könnte, daß jeder auf die Platte ausgesäte Einzelkeim auch wirklich eine Einzelkolonie hervorruft. Wir haben daher die Prüfung in der Weise durchgeführt, daß wir Kaninchen gleichzeitig mit der zweiten *Koch*-Bazilleninfektion andere Krankheitserreger,

Da die Staphylokokkenaufschwemmungen an jedem Versuchstag frisch hergestellt wurden, wechselte die Dichte derselben etwas, was auch im Verhalten der Kontrollen deutlich zum Ausdruck kommt. Man wird also in den durch die Tabellen dargestellten Versuchen lediglich die zusammengehörigen, gleichzeitig angesetzten Versuche und Kontrollversuche vergleichen können. Jedesmal sieht man, daß die Ausscheidung der intravenös eingespritzten Staphylokokken bei den Kaninchen, welche einen Reinfektionsschock durchgemacht haben, erheblich rascher vor sich geht als bei den Kontrolltieren. Während diese Erscheinung in allen Versuchen, die 3 Stunden bis 11 Tage nach dem Schock angesetzt wurden, beobachtet wurde, zeigte sich eine stärkere Resistenz der Schoektiere gegen die tödliche Wirkung der Infektion nur in dem 4 Tage nach dem Schock ausgeführten Versuch. Die beiden nicht vorbehandelten Kontrolltiere erlagen der Infektion nach 6 Stunden und vor 24 Stunden. Die beiden Tiere jedoch, welche 4 Tage vorher einen Reinfektionsschock durchgemacht hatten, überlebten die nachträgliche Staphylokokkeninfektion. Eines derselben ging am 4. Tag ein, das zweite überlebte endgültig. Das ist eine Wirkung, die ungefähr derjenigen einer intensiven aktiven Staphylokokkenimmunisierung entspricht, wie der folgende Versuch zeigt:

Kaninchen wurden durch fünf intravenöse Injektionen von je 1 ccm einer dichten Aufschwemmung von *Staphylococcus aureus* immunisiert und erhielten 12 bzw. 14 Tage nach der letzten Injektion eine für Normaltiere tödliche intravenöse Staphylokokkeninfektion von derselben Dichte, wie sie in den obigen Ausscheidungsversuchen benutzt wurde. Die 4 Kontrolltiere erlagen dieser Infektion innerhalb 24 Stunden, die 3 vorimmunisierten Tiere am 3., 4. und 5. Tag.

Die fünfmalige Vorbehandlung mit *Staphylococcus aureus* hat also in diesem Versuch eine Immunität hervorgerufen, die ungefähr genau so groß war, wie die Resistenzerhöhung, die 4 Tage nach dem Reinfektionsschock festgestellt wurde. Allerdings ist die durch den Schock bedingte unspezifische vermehrte Widerstandsfähigkeit gegen die Staphylokokkeninfektion offenbar nur von ganz kurzer Dauer, denn sie wurde vor dem 4. Tag vermißt

Blut- entnahme	nach einem Tag		Kontrollen	
	C 03	C 04	C 207	C 208
5 Min.	unzählbar +++	unzählbar +	unzählbar +	unzählbar +
10 Min.	141	156	unzählbar +	unzählbar +
15 Min.	150	117	unzählbar +	105
20 Min.	32	79	unzählbar +	46
25 Min.	25	129	104	115
30 Min.	100	115	unzählbar +	50
1 Std.	142	127	unzählbar ++	178

15. 6. 33.

Blut- entnahme	nach 2 Tagen		Kontrollen	
	C 05	C 06	C 213	C 214
5 Min.	174	100	158	unzählbar +
10 Min.	207	53	261	65
15 Min.	117	29	87	107
20 Min.	10	33	115	85
25 Min.	132	71	36	70
30 Min.	41	90	100	unzählbar +
1 Std.	75	138	70	65

17. 6. 33

Blut- entnahme	nach 4 Tagen		Kontrollen	
	C 07	C 08	C 215	C 216
5 Min.	unzählbar ++	130	unzählbar +++	unzählbar ++
10 Min.	180	46	310	250
15 Min.	51	68	unzählbar +++	unzählbar +
20 Min.	74	unzählbar +	unzählbar ++	79
25 Min.	130	unzählbar ++	unzählbar +	86
30 Min.	108	85	165	unzählbar +
1 Std.	11	24	90	unzählbar +

24. 6. 33

Blut- entnahme	nach 11 Tagen		Kontrollen	
	C 99	C 100	C 251	C 252
5 Min.	unzählbar ++	126	unzählbar +	unzählbar ++
10 Min.	104	72	130	unzählbar +
15 Min.	77	57	108	unzählbar +
20 Min.	unzählbar ++	57	unzählbar +	unzählbar +
25 Min.	62	unzählbar +	unzählbar +	unzählbar +
30 Min.	23	74	unzählbar +	unzählbar +
1 Std.	51	49	100	unzählbar +

selbst wieder zur Ausbildung bestimmter pathologischer Erscheinungen führen, die wir früher als rheumatisch kennzeichneten und die in der schon erwähnten Trias von Veränderungen im Herz und in den Gelenken ihren Ausdruck finden. Die Substrate dieser reaktiven Veränderungen finden wir auch nach dem Reinfektionssehoek bei der Tuberkulose in charakteristischer Form wieder, in den kleinen *Aschoff*sehen Knötchen im Herzen der tuberkulös reinfizierten Kaninchen. Diese Veränderungen sind so kennzeichnend, daß man aus dem Herzbefund allein schon in Vergleichsversuchen die reinfizierten Tiere von den einfach infizierten trennen kann.

Es muß hiernach angenommen werden, daß nach mehrfachem Reinfektionssehoek im Verlauf dieser *Koch*-Bazilleninfektion zu diesem ersten Symptom auch die weiteren für die reaktiv-rheumatischen Erkrankungen charakteristischen Veränderungen, nämlich die an den Gelenken, hinzutreten können. Von Bedeutung sind auch in diesem Zusammenhang die schon erwähnten Beobachtungen von *Metzger* über die reaktiven Erscheinungen in der Vorderkammer des doppeltinfizierten Kaninchens. Seine histologische Analyse dieser Vorgänge hat nämlich gezeigt, daß hier in der Vorderkammer pathologische Veränderungen ablaufen, die denen in den Gefäßen der inneren Organe, beispielsweise der Lunge, vollkommen entsprechen. Endothelbegrenzte Hohlräume können also in gleicher Weise auf den Reiz der Doppelinfektion antworten wie Gefäße selbst, und es wird daher notwendig sein, die analogen Geschehnisse auch in den Gelenkhöhlen zu verfolgen bzw. zu betrachten, was im Anschluß an die in dieser Richtung gehenden Untersuchungen von *Klinge* geschehen kann.

Man wird sich klar darüber sein müssen, daß es sich hier bei den rheumatischen Veränderungen um Folgeerscheinungen handelt, die mit dem eigentlichen Infektionsablauf nichts mehr zu tun haben und die außer durch die wiederholten *Koch*-Bazilleninfektionen auch durch wiederholte andersartige

und war am 11. Tag schon nicht mehr vorhanden. Sie geht parallel der Entwicklung der reaktiven exsudativen Vorgänge, welche durch die zweite Tuberkelbazilleninfektion im vorbehandelten Tier ausgelöst werden und deren Ablauf vorne geschildert worden ist.

Wir sehen also unter dem Einfluß des Reaktionsschocks, den die zweite Koch-Bazilleninfektion im vorinfizierten Tier hervorruft, die in den Kreislauf eingeführten Staphylokokken besonders rasch wieder daraus verschwinden. Das hat zur Folge, daß die Versuchstiere diese Staphylokokken-Infektion viel leichter überwinden. Der durch eine spezifische Reaktion ausgelöste Schock ist also die Ursache einer unspezifischen Resistenzsteigerung auch gegen fremde Infektionserreger. Es ergibt sich aus den Mitteilungen auch die Berechtigung zu dem Analogieschluß, daß die Bakterienart, welche die Sensibilisierung hervorgerufen und den spezifischen Reaktionsschock ausgelöst hat, in gleicher Weise beschleunigt und verstärkt aus der Blutbahn ausgeschieden wird und daß dabei eine Ansiedlung und Herdbildung mit den sich daran anschließenden Einschmelzungsvorgängen lokaler Art eben durch diesen Reinfektionsschock verbunden wird. Außerdem aber muß auch damit gerechnet werden, daß der infizierte Organismus über die Fähigkeit verfügt, tuberkulöses Infektionsmaterial rasch und völlig zu zerstören. Denn *Pagel* konnte an Meersebwurmen-Versuchen zeigen, daß die, menschlichen Leichen entnommenen, käsig-pneumonischen Gewebsteile unter der Haut des normalen Tieres tagelang in ihrer Gewebstruktur erhalten blieben, während sie in Hauttaschen allergischer, tuberkulöser Tiere aufgelöst werden, und zwar wohl zusammen mit den darin enthaltenen Koch-Bazillen.

Die Abwandlungen, welche das Bild des zweiten Krankseins anschließend an die Reinfektion in bereits früher homolog Vorinfizierten gegenüber dem ersten Kranksein erfährt, erscheinen hiernach als die Folge einer allergischen Reaktion des Körpers. Andererseits aber kann eine solche allergische Reaktion auch

Tuberkuline bezeichnen, kommen hier nicht in Frage. Das ergibt schon die Analyse der mitgeteilten Befunde, denn auch nicht tuberkulinbildende, säurefeste Stämme können ja die Umstellung hervorrufen. Tatsächlich ist denn auch der lösliche Giftanteil des Bazillus ohne Wirkung, einerlei, ob man ihn in der Rohform des Alt-Tuberkulins oder in einer der beiden gereinigten Formen, sowohl als Globulin oder als abiureten Körper einspritzt. Unwirksam sind aber auch die Stoffe, welche für die säurefesten Stäbchen charakteristisch sind, wie Fette und Wachse. Man wird allerdings bei solchen Versuchen beachten müssen, daß diese Stoffe, wenn sie durch Extraktion toter *Koch*-Bazillen gewonnen werden, häufig noch recht erhebliche Mengen von Vollbakterien enthalten. Das muß durch wiederholtes Lösen und Ausschleudern vermieden werden. Dagegen bleiben die wirksamen Strukturen in dem Restkörper erhalten.

Es ist nun eine eigentümliche und sehr bemerkenswerte Eigenschaft dieser allergisierenden Substanz der *Koch*-Bazillen, daß sich die durch sie im Körper hervorgerufene Umstellung nicht nur auf eine nachfolgende homologe Infektion mit virulenten *Koch*-Bazillen erstreckt. So wie andere Bakterienarten, also beispielsweise der *Hansensche* Bazillus eine Allergie auch gegen die Nachinfektion mit *Koch*-Bazillen hervorrufen kann, so kann umgekehrt der *Koch*-Bazillus auch gegen die Leprabazillenzufuhr überempfindlich machen. Versuche mit Nachinfektion sowohl mit *Marchoux'scher* Rattenlepra wie auch mit echter menschlicher Lepra haben das gezeigt. Man findet dann Veränderungen im Sinne der Frühreaktion, die anzeigen, daß die Vorbehandlung mit *Koch*-Bazillen den Kaninchenorganismus auch allergisch gegen die Nachbehandlung mit den für sie sonst recht wenig schädlichen Leprabazillen gemacht hat.

Man wird daher daran denken müssen, daß solche durch Vorinfektion hervorgerufene Umstellung der Reaktionsfähigkeit auch für das Zustandekommen der grundverschiedenen klinischen Verlaufsformen des menschlichen Aus-

Infektionen hervorgerufen werden können. Da aber bei der Tuberkulose des Menschen wiederholte Einbrüche der *Koch*-Bazillen in die Bluthahn nach *Loewensteins* Untersuchungen häufiger sein sollen, als man bisher annahm, so ist bei der Tuberkulose die Möglichkeit zur Entstehung reaktiver rheumatischer Veränderungen auch bei Menschen sicherlich häufiger gegeben, als man dies bisher annahm.

Kehren wir hiernach zur Besprechung des Teils unseres Themas zurück, das uns hier in erster Linie interessiert, so wäre nunmehr noch zu bestimmen, ob lediglich eine Verinfektion mit *Koch*-Bazillen eine nachfolgende Infektion mit diesen Krankheitskeimen in dem oben geschilderten Sinn abwandeln kann.

In Versuchen, die nach dem gleichen Schema wie die bisher geschilderten angesetzt wurden, hat sich nun gezeigt, daß man ganz die gleichen reaktiv veränderten Krankheitsbilder charakterisiert durch Frühreaktion und anschließende Ausheilung auch bei solchen Kaninchen finden kann, die vorher mit andersartigen säurefesten Bakterienstämmen verhandelt wurden. Es wirken nach unseren Versuchen in dieser Richtung die *Hansenschen* Bazillen der menschlichen Lepra ebenso wie die diesen morphologisch gleichen Bakterien der Rattenlepra (*Marchoux*), aber selbst apathogene, säurefeste Buttersäurebazillen können denselben Effekt haben.

Diese Befunde gaben schließlich Anlaß, die Frage zu prüfen, welche Bestandteile des *Kochschen* Bazillus bzw. welche Strukturteile desselben für die Ausbildung der Umstellung, die Entwicklung der Allergie, verantwortlich zu machen sind. Es hatte sich nämlich weiterhin gezeigt, daß auch tote *Koch*-Bazillen, in genügender Menge eingespritzt, die gleiche Umstellung hervorrufen können wie lebende, sich im Körper vermehrende, bei denen also die für die Sensibilisierung notwendige Bakterienmasse erst im Körper des Infizierten gebildet wird. An Lebensvorgänge des *Koch*-Bazillus im Infizierten ist also seine Umstellung nicht gebunden. Auch die Giftstoffe des *Kochschen* Bazillus, die wir als

Tuberkuline bezeichnen, kommen hier nicht in Frage. Das ergibt schon die Analyse der mitgeteilten Befunde, denn auch nicht tuberkulinbildende, säurefeste Stämme können ja die Umstellung hervorrufen. Tatsächlich ist denn auch der lösliche Giftanteil des Bazillus ohne Wirkung, einerlei, ob man ihn in der Rohform des Alt-Tuberkulins oder in einer der beiden gereinigten Formen, sowohl als Globulin oder als abiuireten Körper einspritzt. Unwirksam sind aber auch die Stoffe, welche für die sauresten Stäbchen charakteristisch sind, wie Fette und Wachse. Man wird allerdings bei solchen Versuchen beachten müssen, daß diese Stoffe, wenn sie durch Extraktion toter *Koch*-Bazillen gewonnen werden, häufig noch recht erhebliche Mengen von Vollbakterien enthalten. Das muß durch wiederholtes Lösen und Ausschleudern vermieden werden. Dagegen bleiben die wirksamen Strukturen in dem Restkörper erhalten.

Es ist nun eine eigentümliche und sehr bemerkenswerte Eigenschaft dieser allergisierenden Substanz der *Koch*-Bazillen, daß sich die durch sie im Körper hervorgerufene Umstellung nicht nur auf eine nachfolgende homologe Infektion mit virulenten *Koch*-Bazillen erstreckt. So wie andere Bakterienarten, also beispielsweise der *Hansense* Bazillus eine Allergie auch gegen die Nachinfektion mit *Koch*-Bazillen hervorrufen kann, so kann umgekehrt der *Koch*-Bazillus auch gegen die Leprabazillenzufuhr überempfindlich machen. Versuche mit Nachinfektion sowohl mit *Marchourse* Rattenlepra wie auch mit echter menschlicher Lepra haben das gezeigt. Man findet dann Veränderungen im Sinne der Frühreaktion, die anzeigen, daß die Vorbehandlung mit *Koch*-Bazillenden Kaninchenorganismus auch allergisch gegen die Nachbehandlung mit den für sie sonst recht wenig schädlichen Leprabazillen gemacht hat.

Man wird daher daran denken müssen, daß solche durch Vorinfektion hervorgerufene Umstellung der Reaktionsfähigkeit auch für das Zustandekommen der grundverschiedenen klinischen Verlaufsformen des menschlichen Aus-

Infektionen hervorgerufen werden können. Da aber bei der Tuberkulose des Menschen wiederholte Einbrüche der *Koch*-Bazillen in die Blutbahn nach *Locwinstens* Untersuchungen häufiger sein sollen, als man bisher annahm, so ist bei der Tuberkulose die Möglichkeit zur Entstehung reaktiver rheumatischer Veränderungen auch bei Menschen sicherlich häufiger gegehen, als man dies bisher annahm.

Kehren wir hiernach zur Besprechung des Teils unseres Themas zurück, das uns hier in erster Linie interessiert, so wäre nunmehr noch zu bestimmen, ob lediglich eine Vorinfektion mit *Koch*-Bazillen eine nachfolgende Infektion mit diesen Krankheitskeimen in dem oben geschilderten Sinn abwandeln kann.

In Versuchen, die nach dem gleichen Schema wie die bisher geschilderten angesetzt wurden, hat sich nun gezeigt, daß man ganz die gleichen reaktiv veränderten Krankheitsbilder charakterisiert durch Frühreaktion und anschließende Ausheilung auch bei solchen Kaninchen finden kann, die vorher mit andersartigen säurefesten Bakterienstämmen vorbehandelt wurden. Es wirken nach unseren Versuchen in dieser Richtung die *Hansenschen* Bazillen der menschlichen Lepra ebenso wie die diesen morphologisch gleichen Bakterien der Rattenlepra (*Marchoux*), aber selbst apathogene, saureste Buttersäurebazillen können denselben Effekt haben.

Diese Befunde gaben schließlich Anlaß, die Frage zu prüfen, welche Bestandteile des *Kochschen* Bazillus bzw. welche Strukturteile desselben für die Ausbildung der Umstellung, die Entwicklung der Allergie, verantwortlich zu machen sind. Es hatte sich nämlich weiterhin gezeigt, daß auch tote *Koch*-Bazillen, in genügender Menge eingespritzt, die gleiche Umstellung hervorrufen können wie lebende, sich im Körper vermehrende, bei denen also die für die Sensibilisierung notwendige Bakterienmasse erst im Körper des Infizierten gebildet wird. An Lebensvorgänge des *Koch*-Bazillus im Infizierten ist also seine Umstellung nicht gebunden. Auch die Giftstoffe des *Kochschen* Bazillus, die wir als

Sehr rasch einsetzende, aber auch rasch wieder verschwindende reaktive Veränderungen exsudativer Art entstanden auch nach intratrachealen Pneumokokkeninfektionen von Kaninehen, die mit *Koch*-Bazillen vorbehandelt waren. Ja, selbst mit so fernstehenden Mikroorganismen, wie sie die Syphilisspirochäten darstellen, lassen sich in der Länge des tuberkulös vorinfizierten Tieres reaktive Veränderungen von pneumonischem Charakter hervorrufen.

Aus allen diesen Befunden ergibt sich die Eigenschaft der *Koch*-Bazillen, auch gegen eine Nachbehandlung mit ganz andersartigen Bakterien oder Krankheitskeimen den Körper umzustellen und den Ablauf der Nachinfektion zu modifizieren. Dazu kommt — und das ist weiterhin bemerkenswert —, daß solche Bakterieninvasionen, die beim Normaltier zu ganz geringfügigen und flüchtigen Veränderungen am Ort des Eindringens führen, hier bei den tuberkulös vorinfizierten Tieren im Stadium der Allergie reaktive Vorgänge auslösen, die infolge der starken exsudativen Begleiterscheinungen und der anschließenden Resorptionsvorgänge zu krankhaften Veränderungen führen, die in diesem Fall bedingt sind durch sonst apathogene Keime.

Andererseits kann aber auch eine Infektion, wie beispielsweise die Syphilis des Kaninehens, durch die Tuberkulose im günstigen Sinne beeinflußt werden, d. h. rascher zur Abheilung kommen als bei nicht tuberkulösen Tieren. So kann also ein Infektionserreger von begrenzter Pathogenität, ja, selbst ein apathogener Keim im Körper eines durch Tuberkulosevorinfektion allergisch gewordenen Tieres eine rasch einsetzende, von schweren serös exsudativen und zellig-infiltrativen Vorgängen begleitete Krankheit hervorrufen. Wenn die die Reaktion des Allergischen auslösenden Keime Pneumokokken sind, so tritt eine solche Reaktion sehr rasch ein; aber sie kann auch schon innerhalb von wenigen Tagen wieder verschwinden, ja die reaktive Milzschwellung kann bereits nach dem nächsten Tage schon wieder abgeklungen sein. Allgemein ist allen diesen durch die

satzes eine Rolle spielen kann. Denn bei diesem kennen wir zwei durch dieselbe Bazillenart, ja, durch denselben Bazillensamm innerhalb desselben Herdes und derselben Familie hervorgerufene vollkommen verschiedene Erscheinungsformen: eine knotige, akutere und zur Abheilung neigende, sowie eine langsamere, schleichende, durch Hautflecken und nervöse Veränderungen charakterisierte Form, die sich auch medikamentös schlecht beeinflussen läßt. Man wird nach dem Gesagten zur Erklärung dieser Unterschiede nicht nur an Doppelinfektionen mit *Hansenschen* Bazillen denken müssen, sondern auch untersuchen müssen, ob nicht eine bestehende *Koch*-Bazillenverinfektion die nachträgliche Leprainfektion im Verlauf abwandeln kann.

Wie dem aber auch sei, die Umstellungen, welche eine *Koch*-Bazilleninfektion beim Kaninehen hervorruft, ist jedenfalls nicht homolog beschränkt auf die die Allergie auslösende Bakterienart noch auf die ihr nahestehenden säurefesten Bakterien. Der vorn mitgeteilte Staphylokokkenversuch zeigt schon, daß im tuberkulös allergischen Tier die Ausscheidung von diesen grampositiven Kokken sehr viel rascher erfolgt als im Normaltier, und daß dabei auch eine unspezifische Resistenzsteigerung gegenüber den heterologen Krankheitskeimen zutage tritt. Es konnte nun weiterhin gezeigt werden, daß für das Kaninehen sonst ganz harmlose Bakterien, beispielsweise Colibazillen, in der Lunge von tuberkulös vorbehandelten und allergischen Tieren zu erheblichen Infiltrationen, ja, zur Bildung von Einschmelzungshöhlen führen können. Hier führt also die allergische Reaktion, die durch einen ganz andersartigen zweitinfizierenden Keim ausgelöst wird, zu Veränderungen, die in diesem Falle klinisch sehr viel schwerer sind als die unerheblichen Folgen, die die gleiche Infektion beim unvorbehandelten Tier hervorruft. Es können sich sogar Einschmelzungsherde bilden, die in Parallele zu setzen sind denen, die *Roemer* in der Lunge des homolog mit *Koch*-Bazillen vorinfizierten Meerschweinchens erhielt.

Sehr rasch einsetzende, aber auch rasch wieder verschwindende reaktive Veränderungen exsudativer Art entstanden auch nach intratrachealen Pneumokokkeninfektionen von Kanineben, die mit *Koch*-Bazillen vorbehandelt waren. Ja, selbst mit so fernstehenden Mikroorganismen, wie sie die Syphilisspirochäten darstellen, lassen sich in der Lunge des tuberkulös vorinfizierten Tieres reaktive Veränderungen von pneumonischem Charakter hervorrufen.

Aus allen diesen Befunden ergibt sich die Eigenschaft der *Koch*-Bazillen, auch gegen eine Nachbehandlung mit ganz andersartigen Bakterien oder Krankheitskeimen den Körper umzustellen und den Ablauf der Nachinfektion zu modifizieren. Dazu kommt — und das ist weiterhin bemerkenswert —, daß solche Bakterieninvasionen, die beim Normaltier zu ganz geringfügigen und flüchtigen Veränderungen am Ort des Eindringens führen, hier bei den tuberkulös vorinfizierten Tieren im Stadium der Allergie reaktive Vorgänge auslösen, die infolge der starken exsudativen Begleiterscheinungen und der anschließenden Resorptionsvorgänge zu krankhaften Veränderungen führen, die in diesem Fall bedingt sind durch sonst apathogene Keime.

Andererseits kann aber auch eine Infektion, wie beispielsweise die Syphilis des Kaninchens, durch die Tuberkulose im günstigen Sinne beeinflusst werden, d. h. rascher zur Abheilung kommen als bei nicht tuberkulösen Tieren. So kann also ein Infektionserreger von begrenzter Pathogenität, ja, selbst ein apathogener Keim im Körper eines durch Tuberkulosevorinfektion allergisch gewordenen Tieres eine rasch einsetzende, von schweren serös exsudativen und zellig-infiltrativen Vorgängen begleitete Krankheit hervorrufen. Wenn die die Reaktion des Allergischen auslösenden Keime Pneumokokken sind, so tritt eine solche Reaktion sehr rasch ein; aber sie kann auch schon innerhalb von wenigen Tagen wieder verschwinden, ja die reaktive Milzschwellung kann bereits nach dem nächsten Tage schon wieder abgeklungen sein. Allgemein ist allen diesen durch die

verschiedenen nachinfizierenden Keime ausgelösten Reaktionen die Eigenschaft des raschen Auftretens von ausgedehnten exsudativen und infiltrativen Prozessen. Der weitere Ablauf der Reaktion scheint je nach der Art der auslösenden zweitinfizierenden Keime sowohl zeitlich wie auch bis zu einem gewissen Grad der Art nach verschieden zu sein.

Wir möchten in einer späteren Abhandlung auf Grund der in dieser Richtung vorliegenden experimentellen Ergebnisse die Entwicklung solcher rasch auftretenden, reaktiven Krankheitsprozesse näher beschreiben, denn wir glauben, daß diese Ergebnisse für die Erklärung verschiedener Erkrankungen, deren Entstehung noch unklar ist, von Bedeutung sein können. Wir denken dabei in erster Linie an die Bronchopneumonie und an die akute Appendicitis. Auch die Rolle des *Schwarzman*-Phänomens, dieses Spiegelbildes des *Arthus*-Phänomens, wird dann vielleicht noch zu diskutieren sein, nachdem wir uns hier im wesentlichen auf die Behandlung der Frage unseres Themas beschränkt haben, soweit dabei *Koch*-Bazilleninfektionen mit im Spiele sind.

Über innere Komplexsalze in der Medizin

PROF. DR. H. SCHMIDT

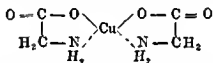
Aus dem Chemischen Forschungslaboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Vor kurzem hat *P. Pfeiffer* eine Systematik der Nebenvalenzringe aufgestellt¹⁾ und damit in eine große Gruppe von Verbindungen, die in der chemischen Systematik bisher stiefmütterlich behandelt waren, Ordnung gebracht.

Das Bedürfnis nach einer solchen Systematik war dringend, da diese Verbindungen eine wachsende Bedeutung in der theoretischen und praktischen Chemie und auch in der Medizin haben.

Nebenvalenzringe sind Ringsysteme, deren Atome außer durch Haupt- auch durch Nebenvalenzkräfte zusammengehalten werden. Als Nebenvalenzringe erster Art (mit einer Nebenvalenzbindung) bezeichnet *P. Pfeiffer* die inneren Komplexsalze.

H. Ley, welcher den ersten Vertreter, das Glykokollkupfer,



hergestellt hat, definiert innere Metallkomplexsalze als Verbindungen, in welchen ein Metallatom haupt- und nebenvalenzartig an ein und denselben organischen Rest gebunden ist.

Nach *P. Pfeiffer* treten ganz scharf die Fünfer- und Sechseringe in den Vordergrund wie bei den reinen Valenzringen.

Zu den inneren Komplexsalzen gehört z. B. auch die bei der Biuretreaktion entstehende Kupferverbindung. Das Eisen liegt im Hämoglobin, das Magnesium im Chlorophyll, das Kupfer im Turacin in sehr komplizierten Nebenvalenzringsystemen gebunden vor; es ist also diese Art der Bindung an große organische Moleküle eine wichtige chemische Methode des Organismus.

¹⁾ *P. Pfeiffer*, Komplexverbindungen. In *Freudenberg*, Stereochemie, 1933, S. 1356 und in *Ann. d. Chemie* 503, S. 84. Vgl. auch *Pfeiffer*, Organische Molekülverbindungen, Stuttgart 1927, und *Weinland*, Einführung in die Chemie der Komplexverbindungen, Stuttgart 1924.

verschiedenen nachinfizierenden Keime ausgelösten Reaktionen die Eigenschaft des raschen Auftretens von ausgedehnten exsudativen und infiltrativen Prozessen. Der weitere Ablauf der Reaktion scheint je nach der Art der auslösenden zweitinfizierenden Keime sowohl zeitlich wie auch bis zu einem gewissen Grad der Art nach verschieden zu sein.

Wir möchten in einer späteren Abhandlung auf Grund der in dieser Richtung vorliegenden experimentellen Ergebnisse die Entwicklung solcher rasch auftretenden, reaktiven Krankheitsprozesse näher beschreiben, denn wir glauben, daß diese Ergebnisse für die Erklärung verschiedener Erkrankungen, deren Entstehung noch unklar ist, von Bedeutung sein können. Wir denken dabei in erster Linie an die Bronchopneumonie und an die akute Appendicitis. Auch die Rolle des *Schwarzman*-Phänomens, dieses Spiegelbildes des *Arthus*-Phänomens, wird dann vielleicht noch zu diskutieren sein, nachdem wir uns hier im wesentlichen auf die Behandlung der Frage unseres Themas beschränkt haben, soweit dabei *Koch*-Bazilleninfektionen mit im Spiele sind.

Bei der praktischen therapeutischen Anwendung der Metallkomplexe kann es sich um körperfremde Metalle oder auch um körpereigene Metalle handeln. Zu den letzteren gehört das Eisen, dessen einfache Salze wie Eisenchlorid Eiweiß fällen. *Starken-stein*¹⁾ hat eine große Zahl von Eisenverbindungen, darunter zahlreiche Komplexsalze, pharmakologisch untersucht mit dem Ergebnis, daß nur gewisse Komplexsalze wie Eisencitratnatrium und -gluconatnatrium befähigt sind, ihr Eisen an die Zelle abzugeben, während z. B. Hämoglobin und Ferrocyanatnatrium unwirksam sind. *Starkenstein* nennt erstere „anorganisch-komplexe“, letztere „organische“ Eisenverbindungen, eine Bezeichnungsweise, die sich auf den Grad der Maskierung gegen Fällungsreagenzien gründet, der aber chemisch nicht beizupflichten ist. Auch in den letzteren Fällen handelt es sich um Eisenkomplexsalze, nicht um eigentliche „organische“, d. i. Eisen-Kohlenstoff-Verbindungen.

Von Interesse ist es, daß Hämoglobin nach St. unwirksam ist. Bei der Arzneimittelsynthese von Metallkomplexen wird es sich darum handeln, die natürliche Methode der inneren Komplexbildung in geeigneter Weise anzuwenden, nicht aber die physiologischen Komplexe selbst dem Körper anzubieten.

In zahlreichen synthetischen organischen Metallkomplexbildnern sind es — ähnlich wie in den oben erwähnten biogenen Komplexbildnern — Sauerstoff, Schwefel und Stickstoff, deren Nebenvalenzkräfte die Komplexbindung zustande bringen. Unter den Sauerstoff-Komplexbildnern ist neben den aliphatischen Polyoxyverbindungen besonders das Brenzkatechin durch starke komplexbildende Fähigkeiten gegenüber sehr zahlreichen Elementen ausgezeichnet (*Weinland*).

Will man einen Komplexbildner besonders für parenteral zu verabreichende Metalle anwenden, so muß verlangt werden, daß er als solcher indifferent ist, daß er im wesentlichen nur die

¹⁾ Arch. Exp. Path. Pharm. 118, S. 131. *Starkenstein* und *Weden*, ebenda 150, S. 332 und S. 354.

Metall in das physiologische Geschehen einzubeziehen. Wir wissen, daß der Organismus über eine ganze Reihe solcher „biologischer Komplexbildner“ verfügt, die durch Nebenvalenzen von Stickstoffatomen wie in den genannten Fällen oder von Sauerstoff oder von Schwefel Metall in größere Moleküle einzulagern vermögen und sie so, der hindernden ionogenen Form entkleidet, ihre Funktion ausführen lassen kann, wie das z. B. für die katalytische Funktion des Eisens im Hämoglobin gilt.

Denn ein wichtiges Charakteristicum der inneren Komplexverbindungen ist ja die Aufhebung oder Herabsetzung der Ionisierung, was sich u. a. in dem Ausbleiben charakteristischer Fällungsreaktionen zeigt.

Diese „Maskierung“ von Metallen spielt seit geraumer Zeit eine wichtige Rolle in der Pharmakologie und Arzneimittelsynthese. Sie kann auf zwei Wegen erreicht werden: durch direkte Bindung der Metalle an Kohlenstoff oder durch Komplexbildung. Es ist noch gar nicht lange her, daß die chemische Forschung wichtige Aufklärungen über solche ältere maskierte pharmazeutische Präparate geliefert hat. So hat *Dimroth* gezeigt, daß das Hydrargyrum salicylicum der Pharmacopoea kein „basisches Quecksilbersalicylat“, sondern eine Mercurisalicylsäure ist. *Ehrlich* hat entdeckt, daß das so überraschend ungiftige und wirk-same Atoxyl kein „Arsensäureanilid“, sondern p-Aminophenylarsinsäure ist. Die pharmakologische und chemotherapeutische Forschung hat immer klarer erkennen lassen, was wir von den beiden Gruppen von Verbindungen zu erwarten haben. Die Bindung der Metalle an Kohlenstoff, die für die praktische Anwendung auf verhältnismäßig wenige Elemente beschränkt ist, ermöglicht vielfach ¹⁾ grundsätzliche Änderungen in der Wirkungsweise, die Komplexbildung ermöglicht Beeinflussung der lokalen und allgemeinen Verträglichkeit, auch Beeinflussung der Distribution und Resorption, ohne jedoch im allgemeinen grundsätzliche Änderungen der Wirkung hervorzubringen.

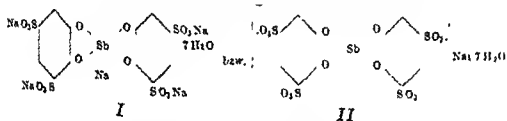
¹⁾ Vgl. dazu die Ausführungen des Verf. „Medizin und Chemie“ Bd. I.

Praktisch hat sich durchweg ergeben, daß die Metalle in der Form ihrer Komplexsalze mit brenzkatechindisulfonsaurem Natrium lokal und allgemein gut verträglich sind.

Mit Eisen wird ein blutrotes Komplexsalz gebildet (empfindliche Farbreaktion). Wismut bildet eine durch große Ungiftigkeit und Wirksamkeit ausgezeichnete Komplexverbindung¹⁾ ähnlich Kupfer, Blei und zahlreiche andere Elemente. Näher betrachten wollen wir die in den Arzneischatz als Injektionslösungen eingeführten Komplexsalze des Antimons (Euadin, Neo-Antimosan) und des Calciums (Selvadin).

Fuadin (Neo-Antimosan).

Antimon^{III}-bis-brenzkatechindisulfonsaures Natrium.



Formel II bringt entsprechend der von P. Pfeiffer l. c. für das Kaliumsalz (Alt-Antimosan) angegebenen Schreibweise die Dissoziation zum Ausdruck.²⁾

Das 3-wertige Antimon ist mit den drei Hauptvalenzen und einer Nebervalenz an die 4 Sauerstoffatome der beiden Brenzkatechinmoleküle gebunden. Antimon tritt nicht als gesondertes Ion, sondern in dem großen electronegativen Bestandteil, dem Anion des Moleküls eingeschlossen auf.

Die 7 Moleküle Wasser sind locker gebunden, sie lassen sich im Vakuum langsam entfernen.

Fuadin enthält den Nebenvalenzfünfferring



Reaktionen zum Nachweis der Komplexbindung.

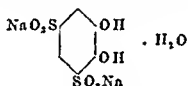
Zum Vergleich führe ich, da die einfachen Salze des Antimonoxyds, wie das Antimonchlorür (Antimonbutter), leicht durch

²⁾ Über die trypanozide Wirkung vgl. *Schnitzler*, Zentralblatt f. Bakt. u. Parasit. 86, S. 95 (1927)

²⁾ Von der von anderer Seite vorgeschlagenen Schreibweise mit Koordinationsvalenzen wird abgesehen. Solange diese Valenzen wie Hauptvalenzen geschrieben werden, entstehen leicht Irrtümer über den Wertigkeitszustand.

Einverleibung, Resorption und Verteilung des Metalls begünstigt. Eine Verbindung, die eine so starke pharmakologische Wirkung aufweist wie das an sich sowie als Grundsubstanz z. B. des Adrenalins nicht körperfremde aber stark giftige Brenzkatechin, kommt daher als arzneilich anzuwendender Komplex nicht in Frage. Ein weiterer Hinderungsgrund ist die starke Empfindlichkeit gegen oxydative Einflüsse, die Labilität vieler seiner Komplexe und manche andere chemische Unzulänglichkeiten.

Diese Hindernisse sind mehr oder weniger behoben in den Säurederivaten des Brenzkatechins, besonders in der Brenzkatechindisulfosäure¹⁾, deren Metallkomplexe ich seit 1922 dargestellt und untersucht habe. Als Komplexbildner dient das Natriumsalz



das 1 Mol Wasser fest gebunden enthält und in wässriger Lösung sauer reagiert.

Es ist für den Körper indifferent: Es wird von der Maus in großen Dosen gut vertragen. Die charakteristischen Wirkungen des Brenzkatechins fehlen. Die Ausscheidung erfolgt durch den Harn. Nach den Versuchen von Wiegand (Elberfeld) wurden in 24 hor. 78 % des injizierten Präparats im Harn wiedergefunden. Die Fähigkeit zur Bildung stabiler neutrallöslicher Komplexe mit stark maskiertem Metall ist gegenüber dem Brenzkatechin selbst wesentlich erhöht.²⁾

¹⁾ Nicht zu verwechseln mit der Brenzkatechinschwefelsäure, welche in kleinen Mengen im normalen Harn vorkommt.

²⁾ Die wechselnde Stärke der Komplexbindung, meßbar an der Bildungstendenz der Komplexe und ihren Eigenschaften, abhängig quantitativ von der Stärke der beim Komplexbildner einerseits und beim Metall andererseits zur Verfügung stehenden Nebervalenzkräfte und qualitativ von ihrer Nebervalenzverwandtschaft, wie ich es nennen möchte, ist ein für die arzneiliche Verwendung wichtiges, großer Differenzierungen fähiges Moment, dessen systematische Erforschung sehr verdienstvoll wäre.

sauren pH; der Komplex wird bei jeder pH-Verschiebung instabil und läßt Antimonoxyd ausfallen.

Im Fuadin dagegen ist das Antimon nur durch die charakteristische Fällungsreaktion mit Schwefelwasserstoff als rotes, ganz unlösliches Antimonsulfid nachweisbar.

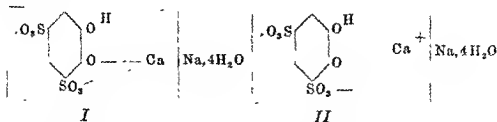
Pharmakologische und therapeutische Erfahrungen. ¹⁾

Lokal reizlos verträglich im Gegensatz zu dem Nekrosen setzenden Brechweinstein, daher intramuskulär applizierbar, Allgemeinverträglichkeit erheblich verbessert, daher besserer chemotherapeutischer Index (*Uhlenhuth* und *Kuhn* und *Schmidt*). Klinisch durch Herabsetzung der Nebenwirkungen ausgezeichnet, besonders seit das frühere Kaliumsalz durch das Natriumsalz ersetzt ist. Therapeutisch ist die typische Wirkung dreiwertiger Antimonpräparate bei Tropenkrankheiten, wie Bilharziosis, Orientheule usw., erhalten. Die bessere Verträglichkeit ermöglicht intensivere Ausnutzung. In letzter Zeit ist bei Bilharziosis tägliche Injektion des Fnadin vorgeschlagen worden, die bei Brechweinstein nicht durchführbar ist.

Selvadin.

Calcium-brenzcatechindsulfonsaures Natrium.

Die Bruttozusammensetzung $C_6H_3O_8S_2NaCa \cdot 4H_2O$ (mit 10 % Ca) kann durch folgende Strukturformel (I)²⁾ ausgedrückt werden:



¹⁾ Bezüglich näherer Angaben über Fuadin vgl. auch Arch. f. Schiff- und Tropenhygiene 1931, Beiheft 2, und Zeitschr. f. angew. Chemie, 1930, S. 963.

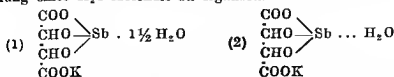
²⁾ Die Bruttozusammensetzung kann auch zu der dimolekularen Formel III aufgelöst werden, die an anderer Stelle wiedergegeben worden ist. Die physikochemischen Daten brachten keinen Entscheid, doch ist den (Fortsetzung siehe nächste Seite).

Wasser hydrolysierbar sind, noch den Brechweinstein an. Im Brechweinstein liegt allerdings auch ein Komplexsalz vor, aber ein solches mit schwacher Komplexbindung.¹⁾ Es wird sich also der Unterschied der schwachen und starken Komplexbildung in den Reaktionen zeigen. Für die Fällungsreaktionen wurde die Konzentration der üblichen Injektionslösungen verwendet, d. i. beim Brechweinstein 2 %ig, beim Fnadin die isotonische 6,3 %ige Lösung.

Reagens	SbCl ₃	Brechweinstein	Fnadin (Neo-Antimosan)
Wasser	wird hydrolytisch zerlegt, Abscheidung von Antimonoxyd	löslich, sauer pH etwa 4,5	löslich, neutral
Zusatz zur Lösung		2 %ig	6,3 %ig
n-Salzsäure		Fällung	bleibt klar
n-Natronlauge		Fällung	bleibt klar
Sodalösung		Fällung	bleibt klar
Natr. bio.		nach einigen Min. beginnende Fällg.	bleibt klar
Schwefelwasserstoff in angesäuerter Lösung		rote Fällung	rote Fällung

Es ergibt sich, daß der Grad der Komplexbindung im Brechweinstein eigentlich nur ermöglicht, das dreiwertige Antimon in wässriger Lösung zu halten, und zwar nur bei einem

¹⁾ Mein Vorschlag (l.c.), die veraltete Auffassung des Brechweinsteins als antimonylweinsaures Kalium durchgehend zu verlassen, hat mehrfach Anklang gefunden und zu einer Neuaufnahme der Diskussion geführt. Ohne hier auf Einzelheiten einzugehen, möchte ich nur erwähnen, daß *Reihlen* vorgeschlagen hat, die seinerzeit von mir zitierte *Schiffsche* Formel (1), welche die Eigenschaften besser zum Ausdruck bringt, durch Nebenvalenzbindung eines H₂O-Moleküls zu ergänzen.



Doch scheint auch mit dieser Formel (2), in der übrigens $\frac{1}{2}$ Molekül Wasser fehlt, noch nicht das letzte Wort gesprochen zu sein.

sauren pH; der Komplex wird bei jeder pH-Verschiebung instabil und läßt Antimonoxyd ausfallen.

Im Fuadiu dagegen ist das Antimon nur durch die charakteristische Fällungsreaktion mit Schwefelwasserstoff als rotes, ganz unlösliches Antimonsulfid nachweisbar.

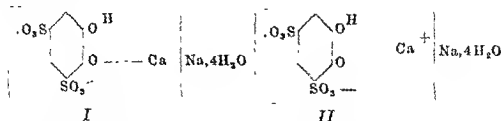
Pharmakologische und therapeutische Erfahrungen. ¹⁾

Lokal reizlos verträglich im Gegensatz zu dem Nekrosen setzenden Brechweinstein, daher intramuskulär applizierbar, Allgemeinverträglichkeit erheblich verbessert, daher besserer chemotherapeutischer Index (*Uhlenhuth* und *Kuhn* und *Schmidt*). Klinisch durch Herabsetzung der Nebenwirkungen ausgezeichnet, besonders seit das frühere Kaliumsalz durch das Natriumsalz ersetzt ist. Therapeutisch ist die typische Wirkung dreiwertiger Antimonpräparate bei Tropenkrankheiten, wie Bilharziosis, Orientbeule usw., erhalten. Die bessere Verträglichkeit ermöglicht intensivere Ausnutzung. In letzter Zeit ist bei Bilharziosis tägliche Injektion des Fuadin vorgeschlagen worden, die bei Brechweinstein nicht durchführbar ist.

Selvadin.

Calcium-brenzkatechindisulfonsaures Natrium.

Die Bruttozusammensetzung $C_6H_2O_6S_2NaCa \cdot 4 H_2O$ (mit 10 % Ca) kann durch folgende Strukturformel (I) ²⁾ ausgedrückt werden:



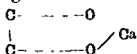
¹⁾ Bezüglich näherer Angaben über Fuadin vgl. auch Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene 1931, Beiheft 2, und Zeitschr. f. angew. Chemie, 1930, S. 963.

²⁾ Die Bruttozusammensetzung kann auch zu der dimolekularen Formel III aufgelöst werden, die an anderer Stelle wiedergegeben worden ist. Die physikochemischen Daten brachten keinen Entscheid, doch ist den

(Fortsetzung siehe nächste Seite).

Das Calcium ist in dreifacher Form mit dem Brenzkatechinmolekül verknüpft:

Durch die beiden Hauptvalenzen einerseits an ein Sauerstoffatom, andererseits an eine Sulfosäuregruppe, außerdem durch Nebenvalenzbindung an die zweite Hydroxylgruppe. Der Nebenvalenzfünfferring



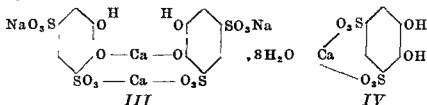
ist in eigenartiger Weise verknüpft mit einem durch innere Salz- bildung zwischen Calcium und Sulfosäuregruppe gebildeten Ring. Herrn Professor *Pfeiffer* verdanke ich den freundlichen Hinweis in einer Unterredung, daß nach neueren Anschauungen die innere Salz- bildung zwischen Calcium und der Sulfosäure- gruppe in der Dipolformel II zum Ausdruck gebracht werden kann. Die Formulierung innerer Salze mit Dipolformeln ist von *P. Pfeiffer* zuerst für Botain, dann auch für innere Salze der aromatischen Reihe durchgeführt worden, um theoretischen Be- denken stereochemischer Art gegen die Ringformeln zu hegegnen.

Von den 4 Molekülen Wasser lassen sich 3 Moleküle im Vakuum entfernen, das letzte Molekül erst bei höherem Erhitzen; es ist anzu- nehmen, daß es durch weitere Nebenvalenzbetätigung an das Calcium gebunden ist.

Die 12 %ige Lösung ist isotonisch. Das Handels-Selvadin ist eine 9 %ige, mit Glucose isotonisch eingestellte Lösung mit 9 mg Ca in 1 ccm.

Formeln I bzw. II der Vorzug zu geben, da sie das Verhalten gegen Fällungs- reagenzien (s. unten) besser zum Ausdruck bringen.

Dagegen ist die kürzlich von anderer Seite in einer Zusammenstellung (Zeitschr. f. angew. Chemie 1933, S. 488) veröffentlichte Formel IV, in der das Calcium nicht komplex gebunden erscheint, nicht zutreffend. Eine solche Verbindung läßt sich zwar auch herstellen, sie ist aber scharf vom Selvadin unterschieden. Näher auf solche andere Calciumverbindungen einzugehen, gestattet der Raum nicht.



Reaktionen zum Nachweis der Komplexbindung.

Zum Vergleich ist das ionisierte Chlorcalcium gewählt.

Reagens	5 ccm Chlorcalcium- lösung 1 ccm = 9 mg Ca	5 ccm Selvadin 1 ccm = 9 mg Ca
Natronlauge 15%	sofort Fällung	bleibt klar
0.5 ccm Sodaausgang 10 %ig	sofort Fällung	klar, nach 1 bis 2 Stunden beginnende Trübung
4 ccm Natr.-bic.-Lösung 5 %ig	sofort Fällung	klar, nach einigen Minuten von oben her allmählicheinsetzende Trübung
Ammoniumoxalat	sofort Fällung	sofort Fällung

Die Tabelle zeigt im Gegensatz zu dem momentan die Ionenreaktionen gebenden Chlorcalcium eine deutliche Maskierung des Selvadin-Calciums gegen Natronlauge, Soda und Bicarbonat. Dagegen fällt das typische Reagens auf Calcium, Ammoniumoxalat, sofort den ganz unlöslichen oxalsauren Kalk aus, ähnlich wie der Schwefelwasserstoff das Antimonsulfid im Fnadin. Aber während beim Fuadin eine Fällung durch schwächere Fällungsmittel ganz ausblieb, sehen wir beim Selvadin eine verzögerte Fällung von Calciumcarbonat durch Soda oder Bicarbonat, also eine schwächere Maskierung.

Pharmakologisch-Klinisches.

Beim Calcium haben wir es mit einem körpereigenen Element zu tun, mit dessen therapeutischer Zufuhr nicht wie mit dem körperfremden Antimon vornehmlich eine antiparasitäre Wirkung erzielt werden soll, sondern in den sehr komplizierten physiologischen Kalkhaushalt eingegriffen wird.

Das Serum enthält normalerweise 10—12 mg Calcium in 100 ccm, und zwar in drei Formen: an Eiweiß gebunden (nicht dialysabel), komplex und als Ion. *Benjamin* und *Hess* unterscheiden unter Berücksichtigung der Adsorbierbarkeit an Bariumsulfat sogar vier Fraktionen. Die neuen Forschungen zeigen, daß diesen einzelnen Zustandsformen bestimmte physiologische Funktionen zukommen.

Bei diesen komplizierten Verhältnissen sind Änderungen in der Allgemeinverträglichkeit, Resorption und Verteilung zu erwarten, wenn der Kalk in der eigenartig maskierten Form des Solvadin injiziert wird, wie Weese¹⁾ zum erstenmal deutlich hervorgehoben hat. Es ist nicht verwunderlich, daß das Schicksal des Solvadin im Körper wesentlich durch den Komplexbildner und nicht durch das Calcium bedingt ist. Die lokale Reizlosigkeit — im Gegensatz zu dem bei intramuskulärer Injektion schwere Nekrosen setzenden Chlorcalcium —, die rasche Resorption und die optimale Retention wurden experimentell (Weese) und klinisch (Seyderhelm²⁾ u. a.) nachgewiesen. Die zu erwartende besondere Verteilung auf die einzelnen Gewebe harret noch der Durchforschung.

Calcium wird an das Gewebe auf dem Wege der „Austauschbindung“ (im Sinne von Zips) abgegeben, der Komplexbildner wird in 12—24 Stunden größtenteils ausgeschieden (Wiegand).

Im einzelnen sind noch folgende Beobachtungen anzuführen:

In Form von Solvadin beträgt die tödliche Grenzdosis pro kg Maus 200 mg Ca gegen 40 mg Ca in Form von CaCl_2 (Weese). Der Kalkhaushalt wird in eigenartiger Weise mobilisiert: Erhöhung der Kalkretention, Abnahme der Calciumausscheidung trotz künstlicher Zufuhr; Mobilisierung von körpereigenem Calcium (Weese). Solvadin ist im isolierten Froschherz in höherer Konzentration weniger toxisch als die bekannten Calciumsalze, was Gehlen³⁾ in Zusammenhang mit den besonderen Dissoziationsverhältnissen der Lösung bringt.

Bei der klinischen Untersuchung am Endothelsymptom (Rumpel-Leedesches Phänomen) wird eine deutliche Erhöhung der gefäßdichtenden Wirkung gegenüber anderen Kalksalzen beobachtet, was Tönges⁴⁾ mit dem langsamen Abdissoziieren der Calciumionen aus dem Komplex in Zusammenhang bringt („Calciumdepot im Blut“). Bei einer anderen Versuchsanordnung an Ratten (Entzündungsreiz durch Röntgenbestrahlung) fand Schikorr⁵⁾ zwar auch Unterschiede zwischen den Calciumsalzen, aber in entgegengesetztem Sinne, was noch der Erklärung harret

¹⁾ D. med. Woch. 1932, S. 408.

²⁾ D. med. Woch. 1932, S. 409.

³⁾ Arch. Exp. Path. Pharm. 169, S. 158.

⁴⁾ Fortschr. d. Therapie 1933, S. 347.

⁵⁾ Arch. Exp. Path. Pharm. 168, S. 190.

Einen Beleg für die verschiedene Verteilung des ionisierten und des komplex gebundenen Calciums fand *Kluge*¹⁾ bei der Untersuchung der Calciumanreicherung im Tumor. Wird die Calciumanflutung im Tumor nach Chlorcalcium zu 100 % gerechnet, so beträgt sie für Selvadine 12,5 %.

Auf die bisherigen klinischen Erfahrungen, welche die Wirksamkeit des Calciumkomplexsalzes und seine Verträglichkeit auch bei extremen Dosen erwiesen haben, kann hier nicht eingegangen werden. Nur eines der zahlreichen Anwendungsgebiete sei herührt: Es ist bekannt, daß Calciuminjektionen die Verträglichkeit z. B. des Salvarsan, des Goldes, des Quecksilbers, des Eisens und anderer Metalle besonders bei Überempfindlichkeit zu verbessern vermögen. Selvadine-Injektionen haben sich ausgezeichnet bei Bleiintoxikationen bewährt (*Zink*²⁾). Auch bei Antimon liegen solche Erfahrungen vor. Von besonderem Interesse ist daher ein Antimoncalciumkomplexsalz der Brenzkatechindisulfosäure, das sich in seinen chemischen und pharmakologischen (*Weese*) Eigenschaften auszeichnet.

Zum Schluß seien die umfassenden Untersuchungen von *Eichholtz* angeführt, welche die Wirkung künstlich zugeführter Komplexbildner bei gleichzeitiger Injektion von Metallsalzen, also eine künstliche Komplexbildung im Organismus, zum Gegenstand haben. So fanden *Hecht* und *Eichholtz*³⁾, daß die Toxizität von Kupfer, Zink, Antimon und Wismut mehr oder weniger herabgesetzt wird, wenn vorher Brenzkatechindisulfonsaures Natrium injiziert war. Die Beobachtung von *Weese* l. c., daß Brenzkatechindisulfonsaures Natrium körpereigenes Calcium mobilisiert, läßt ebenfalls auf eine intermediäre Reaktion des zugeführten Komplexbildners mit dem körpereigenen Calcium schließen.

¹⁾ Biochem. Zeitschr. 242, 228

²⁾ Fortschr. d. Therapie 1932, S. 703.

³⁾ Biochem. Zeitschr. 206, S. 282. Vgl. auch *Eichholtz*, Arch. Exp. Path. Pharm. 148, S. 369, und a. a. O.

Bei diesen komplizierten Verhältnissen sind Änderungen in der Allgemeinverträglichkeit, Resorption und Verteilung zu erwarten, wenn der Kalk in der eigenartig maskierten Form des Solvadin injiziert wird, wie *Weese*¹⁾ zum erstenmal deutlich hervorgehoben hat. Es ist nicht verwunderlich, daß das Schicksal des Solvadin im Körper wesentlich durch den Komplexbildner und nicht durch das Calcium bedingt ist. Die lokale Reizlosigkeit — im Gegensatz zu dem bei intramuskulärer Injektion schwere Nekrosen setzenden Chlorcalcium —, die rasche Resorption und die optimale Retention wurden experimentell (*Weese*) und klinisch (*Seyderhelm*²⁾ u. a.) nachgewiesen. Die zu erwartende besondere Verteilung auf die einzelnen Gewebe harret noch der Durchforschung.

Calcium wird an das Gewebe auf dem Wege der „Austauschbindung“ (im Sinne von *Zipf*) abgegeben, der Komplexbildner wird in 12—24 Stunden größtenteils ausgeschieden (*Wiegand*).

Im einzelnen sind noch folgende Beobachtungen anzuführen:

In Form von Solvadin beträgt die tödliche Grenzdosis pro kg Maus 200 mg Ca gegen 40 mg Ca in Form von CaCl_2 (*Weese*). Der Kalkhaushalt wird in eigenartiger Weise mobilisiert: Erhöhung der Kalkretention, Abnahme der Calciumausscheidung trotz künstlicher Zufuhr; Mobilisierung von körpereigenem Calcium (*Weese*). Solvadin ist im isolierten Froschherz in höherer Konzentration weniger toxisch als die bekannten Calciumsalze, was *Gehlen*³⁾ in Zusammenhang mit den besonderen Dissoziationsverhältnissen der Lösung bringt.

Bei der klinischen Untersuchung am Endothelsymptom (Rumpel-Leedesches Phänomen) wird eine deutliche Erhöhung der gefäßdichtenden Wirkung gegenüber anderen Kalksalzen beobachtet, was *Tönges*⁴⁾ mit dem langsamen Abdissoziieren der Calciumionen aus dem Komplex in Zusammenhang bringt („Calciumdepot im Blut“). Bei einer anderen Versuchsanordnung an Ratten (Entzündungsreiz durch Röntgenbestrahlung) fand *Schikorr*⁵⁾ zwar auch Unterschiede zwischen den Calciumsalzen, aber in entgegengesetztem Sinne, was noch der Erklärung harret.

¹⁾ D. med. Woch. 1932, S. 408.

²⁾ D. med. Woch. 1932, S. 409.

³⁾ Arch. Exp. Path. Pharm. 169, S. 168.

⁴⁾ Fortschr. d. Therapie 1933, S. 347.

⁵⁾ Arch. Exp. Path. Pharm. 168, S. 190.

zeichnungen wie Ambozeptor, Komplement usw. die Möglichkeiten mit sich, Kenntnisse über die Wirkungsart der Antikörper und das Wesen der Antigen-Antikörper-Beziehungen vorzutäuschen, die wir in der Tat nicht hesitzen.

Man muß sich einmal mit aller Deutlichkeit klar machen, daß alle die zahlreichen Phänomene der Serologie, die sich in vitro zwischen totem Material abspielen, letzten Endes rein chemisch bedingt sind und in ihrem Ablauf von rein physikalischen Milieubedingungen abhängen. Wir werden also die serologischen Reaktionen erst dann wirklich begriffen haben, wenn wir sie auf chemische und physikalische Gesetzmäßigkeiten zurückführen können. Bis dahin ist zwar der Weg noch weit, aber es liegen schon eine Reihe von vielversprechenden Ansätzen vor. Schließlich ist das Ziel auch, die noch viel verwickelteren Vorgänge immunbiologischer Natur in vivo durch bekannte chemische und physikalische Gesetze zu deuten.

In den Ländern, die weniger unter dem Einfluß der *Ehrlich*-schen Anschauungen standen, sind denn auch schon früh Versuche unternommen worden, den serologischen Phänomenen mehr auf Grund der noch relativ jungen Wissenschaft der Kolloidchemie näher zu kommen, und so wurde der Annahme einer Vielheit von Antikörperarten eine mehr unitarische Auffassung entgegengestellt. Hierdurch gelangte man zwar zu einer weitgehenden Vereinfachung, aber es blieben noch zwei große, bisher unüberbrückbare Gruppen von Antikörpern und auf Grund kausaler Beziehungen auch von Antigenen.

H. Zinsser hat in diesem Sinne die antigenen Substanzen in zwei allgemeine Gruppen eingeteilt:

Die eine Gruppe umfaßt alle jene Substanzen bakterieller, tierischer oder pflanzlicher Herkunft, die spezifische neutralisierende oder antitoxische Qualitäten im Blute des vorbehandelten Tieres hervorrufen. Diese Antigene verdienen als „Antitoxinogene“ eine gesonderte Stellung. Zur weiteren Gruppe gehören alle Eiweißkörper, die unwirksam sind und weder toxische

Über Beziehungen zwischen Antigen und Antikörper

PROF. DR. H. SCHMIDT

Aus der Sero-bakteriologischen Abteilung „Bayer-Meister Lucius-Behringwerke“
und dem Institut für Experimentelle Therapie „Emil v. Behring“, Marburg

Trotz aller Kenntnisse über die Natur der Antigene und Antikörper, die die serologische Forschung der letzten Jahrzehnte gebracht hat, können wir heute Antigene noch nicht besser definieren als Stoffe, die, dem lebenden Organismus einverleibt, diesen zur Bildung von Antikörpern veranlassen können, und Antikörper als Eigenschaften, die die intra- und extrazellulären Flüssigkeiten nach Antigeneinverleibung erwerben und die darin zum Ausdruck kommen, daß beim Zusammenbringen von Antigen mit diesen Flüssigkeiten bestimmte spezifische serologische Reaktionen auftreten, die man mit besonderem Namen belegt hat. So unterschied man Präzipitation und Agglutination, Komplementbindung und Zellauflösung (Cytolyse), Giftneutralisation, Phagocytose und den Erscheinungskomplex, den man mit Anaphylaxie bezeichnet hat. Der früheren schrittweisen Erkenntnis entsprechend nahm man für die verschiedenen Phänomene bestimmte substantielle Antikörper als Träger der spezifischen Antigen-Antikörper-Reaktion an, und die weitere Entwicklung zwang dazu, eine immer größere Vielheit von Antikörperarten anzunehmen und bei einzelnen Arten noch weiter zu unterscheiden in -ine, -oide, -one usw.

Die mit dieser Entwicklung aufs engste verbundene Ehrlichsche Seitenkettentheorie hat lange Zeit außerordentlich befruchtend gewirkt. Aber die bildliche Darstellung, die Ehrlich mangels anderer Möglichkeiten zur Verständlichmachung seiner Vorstellungen einführte, hat in der Folgezeit vielfach den ursprünglichen rein symbolischen Charakter verloren.

Hente bringen die Bildersprache der Ehrlichschen Seitenkettentheorie und die damit zusammenhängenden technischen Be-

Frage ist heute noch nicht zu entscheiden. Jedenfalls ist aber folgendes zu beachten: Entfernt man aus einem antikörperhaltigen Serum die Antikörper durch selektive spezifische Adsorption, so findet man, daß der Verlust an Eiweißmenge, gemessen am Stickstoff, den das Serum dadurch erlitten hat, gering ist, daß also das eigentliche Antikörperglobulin nur einen geringen Anteil des Serumglobulins darstellt. Aus diesem Grunde ist es einerseits möglich (durch Elution aus spezifischen Adsorbaten), Antikörperpräparate herzustellen, die mit den üblichen Eiweißnachweisverfahren keine Eiweißreaktion mehr geben. Dies liegt aber nur an der im Vergleich zu biologischen Verfahren geringen Empfindlichkeit der chemischen Nachweismethoden. Dem Verfasser ist immerhin kein noch so reines Antikörperpräparat bekannt geworden, das nicht nach entsprechender starker Einengung doch noch chemisch Eiweiß erkennen ließ. Die bisherige Antikörperreinigung hat daher nur den indirekten Beweis dafür geliefert, daß der antikörpertragende Eiweißanteil in einem Immunserum im Vergleich zu dem übrigen Serum-eiweiß sehr klein ist. Andererseits ist es aber nicht ausgeschlossen, daß die Antikörper selbst Nichteiweißcharakter haben, aber durch Trennung von Eiweiß alle Merkmale verlieren, die uns ihren Nachweis als Antikörper ermöglichen. Solange noch nicht das Gegenteil sicher erwiesen ist, sprechen die bisherigen Befunde für die Eiweißnatur der Antikörper. Nehmen wir an, sie seien keine Eiweißkörper, dann beständen folgende Möglichkeiten:

Wir können heute sicher annehmen, daß die Antikörper in den Zellen gebildet werden, wenn auch die Annahme diskutiert wird, daß Antikörper im Blute direkt aus den Antigenmicellen durch irgendeine Umwandlung entstehen können. Wenn nun der Antikörper als Nichteiweiß aus den Zellen in die Blutbahn gelangt, so muß er sich sekundär an gewisse Globuline binden, und es bliebe zu erklären, warum der Antikörper unter den Globulinen eine Auswahl trifft, insofern die präzipitierenden Eigenschaften

noch fermentähnliche Eigenschaften zeigen. Ihre parenterale Einführung in den Tierkörper ist von einer Reaktion gefolgt, die sich wesentlich von derjenigen der Antitoxine unterscheidet. Die Antikörper, die dieser Gruppe von Antigenen ihre Entstehung verdanken (Agglutinine, Präzipitine, Cytolysine), sind untereinander identisch in ihrer Struktur und ihrer Bedeutung.

Nun gibt es einige Aussagen über die als Antikörperwirkungen bezeichneten Serumeigenschaften, die für alle Antikörper zutreffen: 1. Alle Antikörper sind thermelabil, wenn auch in verschiedenem Grade. 2. Alle Antigen-Antikörper-Reaktionen, soweit sie die bekannten in-vitro-Reaktionen betreffen, scheinen nur in einem Milieu vor sich gehen zu können, das Elektrolyte enthält. 3. Alle Antikörper sind an Eiweiß gebunden. 4. Das Eiweiß, an das die Antikörperwirkung gebunden ist, hat Globulincharakter. Wir wollen hier nur die beiden letzteren Aussagen etwas eingehender erörtern:

Es ist Tatsache, daß wir bisher keine Antikörperwirkung kennen, die an das Serumalbumin gebunden ist. Das schließt nicht aus, daß es nicht doch welche gibt, doch kennen wir bisher kein Verfahren, solche nachzuweisen. Es ist möglich, daß Eigenschaften, die den *Abderhaldenschen* Abwehrfermenten entsprechen, an das Albumin des Serums geknüpft sind, jedoch bedarf dies noch einer Untersuchung. Auch wird man die Grenze schärfer ins Auge nehmen müssen, wo die spezifische Antikörperwirkung aufhört und in mehr unspezifische fermentähnliche Wirkungen übergeht. Letzteres ist schon deswegen von großem Interesse, weil wir bei Fermenten heute zu wissen glauben, daß sie selbst nicht Eiweißnatur zu besitzen brauchen, aber zur Entfaltung ihrer spezifischen Wirkung einer gewissen micellaren Größe bedürfen, die ihnen durch Koppelung an Eiweiße oder größere Eiweißansteine gegeben ist. Kann es bei den Antikörpern nicht ähnlich liegen? Sind die Antikörper chemisch definierbare Niechteiweißkörper, die nur irgendwie an Globulin gebunden sind, oder sind die Antikörper selbst Globuline? Diese

Lipoiden abnimmt. Die Rolle der Lipide im Globulin ist in immunbiologischer Hinsicht noch so gut wie unbekannt. Für die serologischen Reaktionen ermöglicht erst das Lipoid das Zustandekommen der bekannten in-vitre-Reaktionen, auf deren Mechanismus wir weiter unten zurückkommen.

Die Antitoxin tragenden Pseudoglobuline fallen aus diesem Rahmen heraus, denn bis vor kurzem war es nicht möglich, die Neutralisation von Toxin durch Antitoxin anders als im Tierversuch zu beweisen. Aber seit einigen Jahren kennen wir eine in vitro stattfindende Toxin-Antitoxin-Flockung. Dieses viel umstrittene Phänomen ist keine die Toxin-Antitoxin-Neutralisierung zufällig begleitende Eiweiß-Antieiß-Flockung im Sinne der spezifischen Eiweißpräzipitation. Eine solche kommt zwar vor und erscheint dann bei der Toxin-Antitoxin-Flockung als Doppelflockung und ist auch experimentell hervorzurufen. Sondern die Toxin-Antitoxin-Flockung ist eine zwischen der Toxinmicelle und dem Antitoxin tragenden Globulin stattfindende Reaktion, die aber nur dann zur sichtbaren Flockung führen kann, wenn das Antitoxin tragende Globulin noch relativ hydrophober Natur ist. Reinigt man antitoxische Sera soweit, daß sie nur noch solche Antitoxine besitzen, die an lyophiles Pseudoglobulin gebunden sind, dann kann man zwar eine Giftneutralisation in vivo noch nachweisen, nicht mehr aber in vitro durch eine Flockung.

Es ist also zunächst wichtig, festzustellen, daß es Antitoxine gibt, die mit Toxin präzipitieren und, wie ebenfalls gezeigt werden konnte, auch Komplementbindung geben können, und Antitoxine, die dies nicht können, sondern nur noch neutralisierende Wirkung haben.

Wodurch ist nun die Verteilung der Antikörper auf die verschiedenen Globuline bedingt oder mit anderen Worten, wodurch kommt es, daß Präzipitine, Agglutinine usw. Euglobulincharakter, das Antitoxin aber vorwiegend Pseudoglobulincharakter haben? Es scheint mir auf Grund bisher bekannter Tatsachen wie auch eigener Versuche sehr wahrscheinlich zu sein,

mehr an das lyophobe, die antitoxischen Eigenschaften mehr an das lyophile Globulin gebunden sind. Plausibler und mit allen bekannten Tatsachen besser vereinbar scheint die Annahme zu sein, daß aus den Zellen bei der Immunisierung globulinartiges Eiweiß mit Antikörpereigenschaften austritt und in das Blut gelangt.

Nehmen wir also ein Antikörperglobulin an. Chemisch läßt sich dieses Globulin nicht von anderem „Nichtantikörperglobulin“ unterscheiden, wohl aber durch seine mit dem Antigen unter geeigneten Versuchsbedingungen auftretenden Reaktionen, deren wesentlichstes Merkmal die sogenannte Spezifität ist. Auf Grund der Arbeiten von *Obermeyer* und *Pick*, *Landsteiner* und vielen anderen ist man heute berechtigt, diese Spezifität als rein chemisch bedingt aufzufassen und die Affinität zwischen Antigen und Antikörper, die zu reversiblen Adsorptionsverbindungen führt, als eine chemische Affinität zu bezeichnen. Ohne es bisher beweisen zu können, würde es im Rahmen dieser Anschauung passen, den Unterschied zwischen Antikörperglobulin und gewöhnlichem Globulin nur in einer strukturellen Verschiedenheit im Aufbau des Globulinmoleküls zu erblicken.

Nun sind die Globuline verschieden, an denen die Antikörper sitzen, oder mit anderen Worten, wenn man die Serumglobuline fraktioniert, so sitzen die einzelnen Antikörperarten in verschiedenen Fraktionen. Alle Antikörper, die in vitro die Erscheinungen der Präzipitation, Agglutination, Cytolyse und Komplementbindung geben, ferner die Opsonine und Tropine bei der Phagocytose, sitzen an mehr oder weniger hydrophoben Globulinen, die, um in Wasser gelöst zu bleiben, der Gegenwart von Elektrolyten bedürfen, während Antitoxine in erster Linie an den lyophilen Globulinen sitzen, wodurch bekanntlich die Reinigung und Konzentrierung der antitoxischen Sera ermöglicht wird. Nun besteht der Haupt-, vielleicht aber der einzige Unterschied zwischen den hydrophoben Englobulinen und den hydrophilen Pseudoglobulinen darin, daß in dem Maße, in dem beim Globulin die Hydrophilie zunimmt, der Gehalt des Globulins an

Lipoiden abnimmt. Die Rolle der Lipoidc im Globulin ist in immunhiologischer Hinsicht noch so gut wie unbekannt. Für die serologischen Reaktionen ermöglicht erst das Lipoid das Zustandekommen der bekannten in-vitro-Reaktionen, auf deren Mechanismus wir weiter unten zurückkommen.

Die Antitoxin tragenden Pseudoglobuline fallen aus diesem Rahmen heraus, denn bis vor kurzem war es nicht möglich, die Neutralisation von Toxin durch Antitoxin anders als im Tierversuch zu beweisen. Aber seit einigen Jahren kennen wir eine in vitro stattfindende Toxin-Antitoxin-Flockung. Dieses viel umstrittene Phänomen ist keine die Toxin-Antitoxin-Neutralisierung zufällig begleitende Eiweiß-Antieiwciß-Flockung im Sinne der spezifischen Eiweißpräzipitation. Eine solche kommt zwar vor und erscheint dann bei der Toxin-Antitoxin-Flockung als Doppelflockung und ist anch experimentell hervorzurufen. Sondern die Toxin-Antitoxin-Flockung ist eine zwischen der Toxinmicelle und dem Antitoxin tragenden Globulin stattfindende Reaktion, die aber nur dann zur sichtbaren Flockung führen kann, wenn das Antitoxin tragende Globulin noch relativ hydrophober Natur ist. Reinigt man antitoxische Sera soweit, daß sie nur noch solche Antitoxine besitzen, die an lyophiles Pseudoglobulin gebunden sind, dann kann man zwar eine Giftneutralisation in vivo noch nachweisen, nicht mehr aber in vitro durch eine Flockung.

Es ist also zunächst wichtig, festzustellen, daß es Antitoxine gibt, die mit Toxin präzipitieren und, wie ebenfalls gezeigt werden konnte, auch Komplementbindung geben können, und Antitoxine, die dies nicht können, sondern nur noch neutralisierende Wirkung haben.

Wodurch ist nun die Verteilung der Antikörper auf die verschiedenen Globuline bedingt oder mit anderen Worten, wodurch kommt es, daß Präzipitine, Agglutinine usw. Euglobulincharakter, das Antitoxin aber vorwiegend Pseudoglobulincharakter haben? Es scheint mir auf Grund hisher bekannter Tatsachen wie auch eigener Versuche sehr wahrscheinlich zu sein,

daß hierfür in erster Linie die micellare Größe des betreffenden Antigons maßgebend ist.

Bekanntlich haben die Arbeiten von *Obermeyer* und *Pick*, *Landsteiner*, *Wells* u. a. zu dem Begriff der Chemospezifität geführt und zu der Erkenntnis, daß Immunsere, die mit einem chemisch veränderten Eiweißantigen dargestellt sind, auch in vitro mit niedrig molekularen Körpern, die als solche keine Antikörper erzeugen können, dann reagieren können, wenn diese die entsprechend gleiche chemische Veränderung aufweisen. So gelang z. B. der Nachweis, daß Tyrosin nach Kuppelung mit diazotierter Metanilsäure spezifische Azoproteinpräzipitine in vitro binden kann. Es konnte der Nachweis erbracht werden, daß es Antigene gibt, die allein nicht zur Bildung von Antikörpern befähigt sind, wohl aber, wenn sie mit Eiweiß gekuppelt werden, die aber andererseits allein imstande sind, ihre Antikörper spezifisch zu binden. Man hat sie nach *Landsteiners* Vorschlag Haptene genannt und rechnet unter anderem gewisse Kohlenhydrate und Lipide zu ihnen. Die Kuppelung an Eiweiß macht sie zu Vollantigenen, mit denen sich gegen die Kohlenhydrate bzw. Lipide gerichtete Antikörper gewinnen lassen.

Die Schlepperrolle des Eiweißes besteht m. E. nur in der Vergrößerung der gesamten Antigenmicelle und bewirkt die Bildung von Antikörpern mit Euglobulinecharakter, die also diejenigen Antigen-Antikörper-Reaktionen in vitro geben können, wie Präzipitation und Komplementbindung, die man als einzigen Nachweis der antigenen Natur der Haptene kannte. Statt Eiweiß können auch Kohlenhydrate, wie z. B. Kollodium, die gleiche Rolle spielen. Andererseits darf man nicht ohne weiteres sagen, daß Haptene ohne Schleppersubstanzen keine Antikörper bilden können. Es ist mehr wie wahrscheinlich, daß sie wohl dazu imstande sind. Nur fehlt solchen Antikörpern, die wahrscheinlich mehr Pseudoglobulinecharakter haben, die Fähigkeit, die bekannten in vitro sichtbaren Antigen-Antikörper-Reaktionen zu geben. Andere Eigenschaften können wir nicht wahrnehmen, weil uns

die Methoden fehlen. Die neutralisierende Eigenschaft von Antitoxinen kommt nur bei primär toxischem Antigen zur Beobachtung, und die meisten Haptene sind eben als solche nicht giftig. Andererseits wissen wir, daß die Immunisierung mit den Polysacchariden von Pneumokokken doch zu Antikörpern führt. Diese gehen zwar keine Präzipitation, haben aber im Tierversuch eine nachweisbare spezifische Schutzwirkung gegen die Infektion der Tiere mit den homologen Pneumokokken. Koppelt man die gleichen Polysaccharide auf chemischem Wege an Eiweiß oder rein adsorptiv an Kollodium, so erhält man spezifische präzipitierende Antikörper (Zozoya).

Hier hat also das gleiche Polysaccharid-Antigen nur durch Änderung der micellaren Größe Antikörper mit verschiedenen Eigenschaften hervorgerufen, von denen wir allen Grund haben, zu vermuten, daß sie auch verschiedenen Globulincharakter aufweisen. Dies zu beweisen, ist mir durch Versuche mit Diphtherie-Antitoxinen gelungen, die von Niemeyer¹⁾ ausgeführt wurden. Im Rahmen der oben entwickelten Vorstellungen war anzunehmen, daß das Diphtherietoxin nur deshalb Antikörper nach Art der an Pseudoglobulin gebundenen Antitoxine hervorrufen kann, weil es eine relativ zum nativen Eiweiß kleine molekulare Größe hat. Es sei nur an die schon lange zurückliegende Beobachtung von Ch. Martin erinnert, der die Dissoziationsfähigkeit von Toxin-Antitoxin-Verbindungen dadurch nachweisen konnte, daß das Toxin schneller und weiter in Gelatine diffundieren konnte als das größere Eiweißmolekül des Antikörpers. Diphtherietoxin kann bis zu einem gewissen Grade auch durch Cellophan diffundieren, dagegen haben zahlreiche vergleichende Cellophandialyseversuche dargetan, daß das durch Formol entgiftete, aber noch antigene Formoltoxoid (Anatoxin) eine etwas vergrößerte micellare Struktur besitzt. Was auch immer das noch nicht sicher bekannte Wesen der Entgiftung durch Formol ist, soviel scheint

¹⁾ Dissertationsarbeit Marburg.

sicher zu sein, daß damit eine micellare Vergrößerung verbunden ist. Allerdings ist diese noch nicht erheblich genug, um bei der Immunisierung im Vergleich zum unveränderten Toxin greifbare Unterschiede zu zeitigen.

Jedenfalls ist die Tatsache, daß die Immunisierung mit Toxinen auf intravenösem Wege sehr viel schlechtere Ergebnisse zeitigt als die auf subkutanem Wege, auf die leichte Diffusibilität des Toxins auf Grund seines relativ kleinen Moleküls zurückzuführen. Bekanntlich kann auch die subkutane Immunisierung erheblich verbessert werden, wenn dem Toxin Tapioka zugefügt wird oder das Toxin an Alaun gebunden wird, also durch Maßnahmen, die eine schwerere Resorption bewirken und im Effekt dem gleich kommen, was eine größere micellare Struktur bewirken würde.

Wir haben nun Toxoid an Kollodium gebunden, welches selbst immunisatorisch keine (nachweisbare!) antigene Wirkung entfaltet und sowohl Kaninchen wie auch Hammel mit solchem Kollodiumtoxoid als auch zum Vergleich mit reinem Toxoid und zur Kontrolle mit reinem Kollodium immunisiert.

Die Immunisierung geschah intravenös und es wurden stets genau gleiche Toxoidmengen wie auch Kollodiummengen injiziert. Da es sich bei Kaninchen und Hammeln um Tiere handelt, die auch auf subkutanem Wege nur schwer zu immunisieren sind, hier aber die Immunisierung intravenös erfolgte, so war der im monatelangen Immunisieren erzielte Antitoxintiter nur gering. Trotzdem ließ sich folgendes feststellen:

1. Die Immunisierung mit Toxoid bewirkte eine relative Globulinvermehrung und diese war bei den Tieren, die mit Kollodiumtoxoid behandelt waren, mehr im Euglobulin ausgeprägt als bei den nur mit Toxoid behandelten Tieren.
2. Untersucht man die Verteilung der Antitoxine auf die einzelnen Globulinfraktionen, so findet man, daß das Maximum von Antitoxin sich bei den mit Kollodium-Anatoxin behandelten Tieren mehr bei den lyophoben Englobuline

findet als bei den nur mit Toxoid behandelten, bei denen die größere Antitoxinmenge beim Pseudoglobulin war.

In beiden Fällen war das Antigen ein Anatoxin und der gebildete Antikörper ein Antitoxin, nur mit verschiedenem Charakter des Globulin, das bei der vergrößerten Anatoxinmicelle mehr hydrophoben und bei dem gewöhnlichen Anatoxin als Antigen mehr hydrophilen Charakter hat. Ich glaube, daß man auf Grund dieser Ergebnisse, die durch Immunisierungsversuche am Pferde noch unbedingt erweitert werden müssen, die Frage beantworten kann, warum Antitoxine vorwiegend mit dem lyophilen Globulin vorkommen. Nämlich, weil Toxine kleine, leicht diffusible Antigene sind. Wie es kommt, daß die Zelle bei hochdispersen Antigenen hydrophile Antikörperglobuline produziert, kann man noch nicht beantworten. Aber man kann als weitere Arbeitshypothese den Gedanken weiterspinnen und annehmen, daß von einer gewissen Kleinheit des Moleküls an überhaupt keine Antikörper mehr gebildet werden können oder solche, die Albuminecharakter haben oder fermentartige Stoffe mit großer Breite der Spezifität. Injiziert man einem Hund Rohrzucker, so bildet er Invertase. An welches Eiweiß im Serum ist diese gebunden?

Ich halte es nicht für unmöglich, daß man durch geeignete Kuppelung von alkaloidartigen Stoffen und Glukosiden zu Stoffen mit Antigenecharakter gelangen kann, die spezifische Antikörper bilden können. Vielleicht ist ein Teil der als Gewöhnung bekannten Erscheinungen auch so zu erklären.

Eine weitere Folgerung der Beziehung der Größe der Antigenmicelle zum Globulinecharakter des Antikörpers ist das Aufhören der Sonderstellung, die man bisher den Antitoxinen im Gegensatz zu den anderen Antikörpern eingeräumt hat. Es gibt Antitoxine mit verschiedenem Globulinecharakter und daher mit verschiedenen Reaktionsmöglichkeiten. Wie schon oben erwähnt, vermögen nur solche Antitoxine mit Toxin *in vitro* eine Flockung zu geben, deren Globulin relativ hydrophob ist. Reines lyophiles Antitoxinglobulin gibt dagegen keine Flockung mehr. Aber alle

Antitoxine können sich mit Toxin verbinden. Es bedarf noch weiterer Untersuchungen, inwieweit der Globulinecharakter des Antitoxins maßgebend für die Festigkeit der Toxin-Antitoxin-Bindung ist, d. h. für das, was manche mit Avidität des Antitoxins bezeichnen und durch die Geschwindigkeit messen wollen, mit der Toxin durch ein antitoxisches Serum geflockt werden kann. Da man jedoch Antitoxine als hochgereinigte Pseudoglobuline herstellen kann, die nicht floeken, wohl aber dem Diphtherietoxin gegenüber einen Heilwert haben, so kann man diesen die Avidität nicht absprechen, weil sie nicht floeken. Immerhin muß die Frage, ob und inwieweit der therapeutische Wert der Antitoxine durch die Art ihrer Globuline beeinflusst wird, noch experimentell bearbeitet werden.

Wir können aber noch weiter geben: Auch die Art der Toxin-Antitoxin-Bindung entspricht im Wesen dem Mechanismus der anderen Antigen-Antikörper-Reaktionen, wie er heute am meisten anerkannt wird und wie er im Grunde der Auffassung von *Bordet* entspricht. Die besondere Schwierigkeit bei den Antitoxinen lag in der Kleinheit der Toxinmicellen und dem Umstand, daß man das Toxinantigen nur in flüssiger Form kannte, daher mit ihm keine Versuche ausführen konnte wie mit zelligem Antigen. Bei der Toxin-Antitoxin-Reaktion sprach besonders die als *Danysz'sche* Phänomen bekannte Erscheinung für adsorptionsähnliche Vorgänge.

Das Phänomen besteht bekanntlich darin, daß, wenn zu einer bestimmten Antitoxinmenge eine bestimmte Toxinmenge zugefügt wird, die Mischung dann toxischer ist, wenn das Toxin fraktioniert zugegeben wird, als wenn es auf einmal zugegeben wird. Wird jedoch umgekehrt das Antitoxin fraktioniert zu Toxin gegeben, dann ist die Giftigkeit der Mischung nicht größer, als wenn man es auf einmal zugegeben hätte.

Der Umstand, daß das *Danysz'sche* Phänomen nicht umkehrbar ist, fand durch die Versuche von *J. Freund* eine Erklärung. Hier kam das Toxin durch adsorptive Bindung an

Kolloidumteilchen gewissermaßen korpuskulär zur Wirkung, und *Freund* konnte feststellen, daß die Reihenfolge der Adsorption an Kolloidium, ob erst Toxin und dann Antitoxin oder umgekehrt, für das Ergebnis der Neutralisation maßgebend ist. Seine Ergebnisse, die ich experimentell bestätigen konnte, lassen die Erklärung zu, daß ein Gift nur dann neutralisiert werden kann, wenn es, als Adsorbens dienend, Antitoxin adsorbiert, wobei die zwischen Toxin und Antitoxin wirksame Affinität rein chemisch bedingt sein mag. Bildlich gesprochen ist eine Toxinmicelle dann neutralisiert, wenn sie von einem Außenwall von Antitoxin umgeben ist. Im umgekehrten Fall wirkt der Toxin-Antitoxin-Komplex toxisch. Es spielt sich also bei Neutralisation von Toxin durch Antitoxin im Grunde der gleiche Vorgang ab, wie bei den *in vitro* stattfindenden Antigen-Antikörper-Reaktionen:

Auf Grund spezifischer Affinitäten wird das Immunglobulin an die Antigenmicelle gebunden und erfährt durch diese Adsorption eine Denaturierung im Sinne einer Dehydratation. Diese ist wahrscheinlich bedingt durch den heteropolaren Charakter der Eiweiß-Lipoid-Verbindung, die man für die hydrophoben Globuline annehmen muß. Der relativ hydrophile Eiweißpol übernimmt die Bindung an das Antigen und der hydrophobe Lipoidpol bewirkt die anscheinende Dehydratation. Diese bewirkt, daß der Antigen-Antikörper-Komplex entweder unter dem Einfluß von Elektrolyten präzipitiert oder Komplement binden kann, dessen lytische Wirkung sich dadurch auf das Antigen überträgt, oder phagozytiert werden kann usw., wobei das Antigen selbst eventuell durch Komplement eine Lyse erfahren kann oder aber sonst intakt bleibt und im Falle von Toxin durch die Adsorptionshülle des Immunglobulins neutralisiert wird. Hat das Antitoxin hydrophoben Globulincharakter, dann kann der Toxin-Antitoxin-Komplex agglutiniert und präzipitiert werden sowie auch Komplement binden. Hat das Antitoxin reinen Pseudoglobulincharakter, tritt nur der neutralisierende Effekt des Antitoxins in die Erscheinung.

Wir sehen demnach, daß gerade die vielseitige Globulin-
natur der Antitoxine selbst die Vermittlung zwischen den präzi-
pitierenden Antikörpern als Vertreter der in vitro reagierenden
Antikörper und den nur in vivo durch Neutralisierung wirkenden
Antikörpern übernimmt. Es erscheint daher nicht nur die An-
nahme der Vielheit der Antikörperarten nicht nötig zu sein, son-
dern auch deren Unterscheidung in zwei gesonderte Gruppen im
Sinne von *Zinsser* überflüssig. Als weitere Arbeitshypothese kann
vielmehr gelten: Die Größe der Micelle des Antigens entscheidet
über den Globulincharakter des Antikörpers und der Globulin-
charakter entscheidet über die Art der Reaktionsfähigkeit in vivo
und in vitro mit dem Antigen.

Beitrag zur Kenntnis des gonadotropen Hypophysenvorderlappen-Hormons (Prolan)

PROF. DR. FRITZ LAQUER, DR. KARL DÜTL und DR. HERMANN FRIEDRICH
Aus dem Physiologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Seitdem *Zondek* und *Aschheim* ein zuverlässiges Nachweisverfahren für das gonadotrope Hypophysenvorderlappen-Hormon, wie es jetzt allgemein genannt wird, beschrieben und sein gehäuftes Vorkommen im Schwangrenharn entdeckt haben, sind unübersehbar viele Arbeiten auf diesem Gebiet veröffentlicht worden. Hierauf näher einzugehen, soll nicht der Zweck dieser Darstellung sein, zumal eine Reihe übersichtlicher Zusammenstellungen von *Aschheim*¹⁾, *Zondek*²⁾, *Clauberg*³⁾, *Lautenschläger*⁴⁾ u. a. erschienen sind, auf die hier verwiesen sei.

Wir möchten nur einige Erfahrungen und Beobachtungen, die bei der Bearbeitung des dem gonadotropen Hypophysenvorderlappen-Hormon entsprechenden Präparates „Prolan“ in den letzten sechs Jahren in unseren Laboratorien gemacht wurden, kurz mitteilen, da wir glauben, daß sie auch allgemeines Interesse haben.

1. Die Auswertung des Prolan.

Ursprünglich wurden Mäuse zum Nachweis des gonadotropen Vorderlappen-Hormons vorgeschlagen, die auch bei der Ausführung der *Aschheim-Zondek*sehen Schwangerschaftsreaktion jetzt noch allgemein gebraucht werden. Nach unseren Erfahrungen eignen sich jedoch für laufende Werthestimungen Ratten besser, da sie deutlicher und gleichmäßiger reagieren.

¹⁾ *Aschheim*, Schwangerschaftsreaktion, 2. Aufl., 1933.

²⁾ *B. Zondek*, Hormone des Ovariums u. des Hypophysenvorderlappens, 1931.

³⁾ *Clauberg*, Die weiblichen Sexualhormone, 1933.

⁴⁾ *Lautenschläger*, dieser Band Seite 19.

Wir sehen demnach, daß gerade die vielseitige Globulinatur der Antitoxine selbst die Vermittlung zwischen den präzipitierenden Antikörpern als Vertreter der in vitro reagierenden Antikörper und den nur in vivo durch Neutralisierung wirkenden Antikörpern übernimmt. Es erscheint daher nicht nur die Annahme der Vielheit der Antikörperarten nicht nötig zu sein, sondern auch deren Unterseheidung in zwei gesonderte Gruppen im Sinne von Zinsser überflüssig. Als weitere Arbeitshypothese kann vielmehr gelten: Die Größe der Micelle des Antigens entscheidet über den Globulinecharakter des Antikörpers und der Globulinecharakter entscheidet über die Art der Reaktionsfähigkeit in vivo und in vitro mit dem Antigen.

Corpora lutea auf. Gibt man einem infantilen Tier statt 1 his 3 R.E. 10—30 R.E., so verschwindet nach kurzer Zeit der Oestrus wieder und man findet in den Ovarien fast nur Corpora lutea.

Das Präparat F.P. 224 enthält also der Annahme entsprechend in 1 cem 50 R.E.

Zur Kontrolle der laufend durchgeführten Wertbestimmungen wurde ein vorsichtig und ganz trocken aufbewahrtes Prolan-Präparat, das pro Gramm 15 000 R.E. enthielt, über ein Jahr lang zu verschiedenen Zeiten, im ganzen 13 mal, untersucht. Es wurde mit verschiedenen Bezeichnungen unter die Prüfung zahlreicher anderer Präparate eingeschoben, so daß die auswertende Stelle nicht wußte, daß es sich immer wieder um das gleiche Präparat handelte. Hierbei wurden Konzentrationen, die einem Gehalt von 20 000, 17 500, 15 000, 12 500 und 10 000 Ratten-einheiten entsprachen, geprüft. Wie aus *Abbildung 1* hervorgeht, lag der Grenzwert immer entweder bei 15 000 oder bei 12 500 R.E. Die Schwankungsbreite beträgt also nicht mehr als 15—20 %.

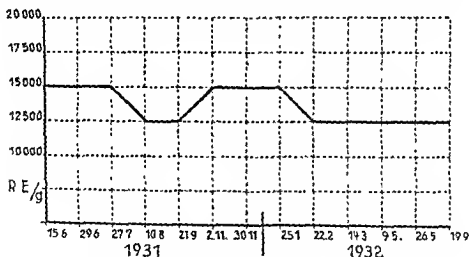


Abb. 1

2. Die Ausscheidung des gonadotropen Hormons im Verlauf der Schwangerschaft.

Bekanntlich tritt schon wenige Tage nach der Konzeption das gonadotrope Vorderlappen-Hormon im Harn auf. Die Ausscheidung nimmt schnell zu und fällt dann im Verlauf der

Wir gehen hierbei folgendermaßen vor:

Benutzt werden selbstgezogene, junge, weibliche Ratten im Gewicht von 28—40 g, die 4—5 Wochen alt sind. Diese erhalten die zu untersuchende Substanz auf 3 Tage verteilt subkutan eingespritzt. Die erste Dosis wird am 1. Tag mittags, die zweite am 1. Tag abends, die dritte am 2. Tag morgens, die vierte am 2. Tag mittags, die fünfte am 2. Tag abends, die letzte sechste am 3. Tag morgens, in 0,1—0,6 ccm Wasser gelöst, verabreicht. Der Scheidenausstrich der Tiere wird untersucht am 4. Tag morgens und nachmittags, am 5. Tag morgens und nachmittags und am 6. Tag morgens. Für jede Konzentration werden 5 Tiere benutzt. Die Reaktion gilt als positiv, wenn bei den Ratten im Scheidenausstrich im Verlauf der Untersuchung ein deutlicher Oestrus (Schollenstadium) auftritt und die makroskopischen Untersuchungen einen vergrößerten Uterus und zahlreiche große Follikel in den Ovarien erkennen lassen. Als Grenzdosis wird diejenige kleinste Menge bezeichnet, die bei mindestens 4 von 5 Ratten diese positive Reaktion bewirkt.

Nachstehend geben wir das Beispiel für die Auswertung eines Präparates (F.P. 224):

Annahme: 1 ccm = 50 Einheiten (R.E.).

Das Präparat wird im Verhältnis 1:50 verdünnt, so daß 1 ccm eine Einheit enthält. Es werden steigende Dosen eingespritzt von $6 \times 0,1$ bis $6 \times 0,3$ ccm (0,6 bis 1,8 Einheiten). Das Ergebnis zeigt die folgende Tabelle:

Dosis	Reaktion der Tiere
$6 \times 0,1$ ccm (0,6 R.E.)	2 positiv 2 negativ 1 tot
$6 \times 0,125$ ccm (0,75 R.E.)	2 positiv 3 negativ
$6 \times 0,15$ ccm (0,9 R.E.)	3 positiv 2 negativ
$6 \times 0,175$ ccm (1,05 R.E.)	5 positiv
$6 \times 0,2$ ccm (1,2 R.E.)	5 positiv
$6 \times 0,25$ ccm (1,5 R.E.)	5 positiv
$6 \times 0,3$ ccm (1,8 R.E.)	5 positiv

Neben den großen reifen Follikeln treten bei den injizierten Ratten, besonders wenn sie höhere Dosen erhalten haben, auch

Wie man sieht, wurde das Maximum der Ausscheidung von 300 000 R.E. pro Liter Harn in der 6. Schwangerschaftswoche erreicht. Die Konzentration fällt dann rasch ab und sinkt auf unter 10 000 R.E. in der 17. Woche.

3. Ist das gonadotrope Hypophysenvorderlappen-Hormon eine einheitliche Substanz?

Die Tatsache, daß nach Injektion des gonadotropen Vorderlappen-Hormons bei infantilen Mäusen und Ratten in den Ovarien sowohl Follikelreifung wie Luteinisierung auftritt, ist von *Aschheim* und *Zondek* und vielen anderen Autoren so gedeutet worden, daß dieses Hormon nicht einheitlich ist und aus zwei verschiedenen Faktoren besteht. Das Hypophysenvorderlappenhormon A (HVH-A) soll nur Follikelreifung hervorrufen, während das sogenannte Hypophysenvorderlappenhormon B (HVH-B) luteinisierend wirkt. Eine sichere chemische Trennung dieser beiden Substanzen ist weder bei den aus Schwangerenharn gewonnenen, noch bei den aus der Hypophyse selbst dargestellten Präparaten, weder anderen Autoren noch uns selbst einwandfrei gelungen. Auch die isolierte Ausscheidung des luteinisierenden Hormons ist niemals beobachtet worden. Wohl aber wird berichtet, daß es Fälle gibt, bei denen nur das follikelreifende Prinzip (HVH-A) im Harn ausgeschieden wird. Diese isolierte Ausscheidung soll stattfinden im Harn von Frauen, die kastriert oder an Carcinom erkrankt sind. Wir haben schon vor längerer Zeit Harn von Frauen, die an Genitalcarcinom litten, nach dem oben erwähnten Verfahren aufgearbeitet. Hierbei mußte, da es sich um verhältnismäßig geringe Mengen handelte, der erhaltene Alkoholniedererschlag weiter gereinigt werden, um die Möglichkeit zu haben, größere Mengen des ausgeschiedenen Hormons im Tierversuch auswerten zu können.

Die Versuche hatten das folgende Ergebnis:

a) Aus einem Carcinomharn wurde ein Präparat gewonnen, das pro Gramm 100 R.E. enthielt (F. 211). Aus 1 Liter Harn ließen sich 25 R.E. darstellen. Von diesem Präparat erhielten

Schwangerschaft wieder ab. Eine charakteristische Ausscheidungskurve ist in *Abbildung 2* verzeichnet. Der Harn einer schwangeren Frau wurde nach dem Alkoholfällungsverfahren (U. S. P. 1910298) aufgearbeitet und im Rattenversuch in der oben beschriebenen Weise ausgewertet.

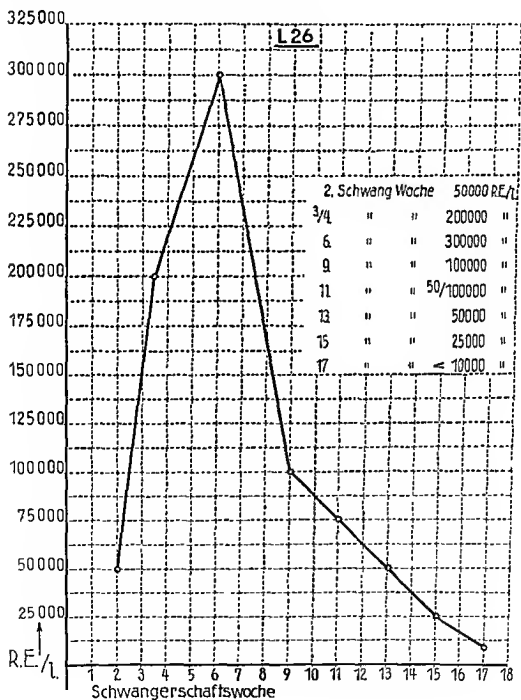


Abb. 2

Über die Verträglichkeit der Chlorderivate des Methans

PROF. DR. E. GROSS

Aus dem Gewerbehygienischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Auf den verschiedensten Gebieten ist dem Gewerbetoxikologen und Gewerbehygieniker durch den experimentell arbeitenden Pharmakologen und den Kliniker wertvolle Vorarbeit geleistet worden, so daß er in vielen Fällen aus dem reichen, durch zahlreiche ins einzelne gehende Arbeiten und Beobachtungen gewonnenen Schatz der Erfahrung schöpfen und die so erworbenen Kenntnisse für seine hygienischen, d. h. prophylaktischen Zwecke und Maßnahmen verwerten kann. Oft jedoch weicht, entsprechend den besonderen Verhältnissen, wie sie bei der Einwirkungsmöglichkeit der Chemikalien auf den Arbeiter bei deren gewerblicher Gewinnung und Verarbeitung gegeben sind, die Fragestellung des Gewerbetoxikologen von der des Pharmakologen und Klinikers wesentlich ab. Während den Pharmakologen und Kliniker in erster Linie die akute Einwirkung eines Mittels und die Unschädlichkeit bei der im Plane des therapeutischen Handelns möglichen Wiederholung der Anwendung interessiert, muß der Gewerbetoxikologe neben der Beobachtung der akuten oder protrahierten Wirkung einer Substanz vielfach sein Augenmerk besonders auf die etwaige chronische Einwirkung im akuten Versuch unterschwelliger Dosen richten.

Ein Teilgebiet der Forschung, das den Pharmakologen und Gewerbetoxikologen gleichermaßen interessiert, ist das der chlorierten Methane. Nachdem im Jahre 1847 *Flourens* die narkotisierende Wirkung des Chlormoforms entdeckt und dieses nach seiner erfolgreichen Anwendung bei der Narkose des Menschen durch *Simpson* seinen Siegeszug als Narkoticum über die ganze Erde angetreten hatte, lag es nahe, auch die drei übrigen chlorierten Methane auf ihre eventuelle Eignung für die Narkose zu erproben.

infantile weibliche Ratten täglich subkutan 50 R.E. In 3 Tagen trat die Brunst auf. Nach 5—6 Tagen verschwand der Oestrus wieder. Nach 14 tägiger Behandlung wurden die Ovarien mikroskopisch untersucht. Neben spärlichen Follikeln ließen sich massenhaft Corpora lutea nachweisen.

Infantile weibliche Mäuse, die 12 Tage lang täglich subkutan 5 R.E. erhalten hatten, zeigten keine Oestrushemmung. Die mikroskopische Untersuchung am Ende der Behandlung ergab in den Ovarien neben vergrößerten Follikeln zahlreiche Corpora lutea.

b) Bei einem zweiten Versuch (F. 236) wurden aus 28 Liter Carcinomharn mittels Alkoholfällung 132 g einer Rohfraktion erhalten. Die weitere Aufarbeitung des Präparates lieferte 7,9 g eines gereinigten Produktes, das pro Gramm 150 R.E. enthielt. In 1 Liter Carcinomharn waren also rund 43 R.E. vorhanden. Dieses Präparat wurde in Tagesdosen von 2,5 R.E. 21 Tage lang Mäusen subkutan injiziert, wonach in den Ovarien zahlreiche Corpora lutea auftraten. Tagesdosen von 10 und von 25 Einheiten 21 Tage lang infantilen Ratten subkutan verabreicht, brachten in den Ovarien ebenfalls zahlreiche Corpora lutea zum Vorschein.

Aus diesen Befunden geht hervor, daß sich auch aus dem Harn von Carcinomkranken Präparate gewinnen lassen, die bei Mäusen wie bei Ratten die Ovarien luteinisieren, wenn man sie nur längere Zeit und in genügend hohen Konzentrationen verabreicht. Dies berechtigt zu der Annahme, daß ganz allgemein das gonadotrope Hypophysenvorderlappen-Hormon in kleinen Dosen follikelreifend, in großen luteinisierend wirkt. Hierfür sprechen auch anatomische Gründe. Es scheint schwer verständlich, wie ein Follikel, der nicht vorher gereift ist, luteinisieren kann.

Ein zwingender Beweis dafür, daß es sich bei dem gonadotropen Hypophysenvorderlappen-Hormon um zwei verschiedene Substanzen handelt, scheint uns demnach noch nicht erbracht zu sein.

Über die Verträglichkeit der Chlorderivate des Methans

PROF. DR. E. GROSS

Aus dem Gewerbehygienischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Auf den verschiedensten Gebieten ist dem Gewerhetoxikologen und Gewerbehygieniker durch den experimentell arbeitenden Pharmakologen und den Kliniker wertvolle Vorarbeit geleistet worden, so daß er in vielen Fällen aus dem reichen, durch zahlreiche ins einzelne gehende Arbeiten und Beobachtungen gewonnenen Schatz der Erfahrung schöpfen und die so erworbenen Kenntnisse für seine hygienischen, d. h. prophylaktischen Zwecke und Maßnahmen verwerten kann. Oft jedoch weicht, entsprechend den besonderen Verhältnissen, wie sie bei der Einwirkungsmöglichkeit der Chemikalien auf den Arbeiter bei deren gewerblicher Gewinnung und Verarbeitung gegeben sind, die Fragestellung des Gewerbetoxikologen von der des Pharmakologen und Klinikers wesentlich ab. Während der Pharmakologen und Kliniker in erster Linie die akute Einwirkung eines Mittels und die Unschädlichkeit bei der im Plane des therapeutischen Handelns möglichen Wiederholung der Anwendung interessiert, muß der Gewerhetoxikologe neben der Beobachtung der akuten oder protrahierten Wirkung einer Substanz vielfach sein Augenmerk besonders auf die etwaige chronische Einwirkung im akuten Versuch unterschwelliger Dosen richten.

Ein Teilgebiet der Forschung, das den Pharmakologen und Gewerhetoxikologen gleichermaßen interessiert, ist das der ehlo-rierten Methane. Nachdem im Jahre 1847 *Flourens* die narkotisierende Wirkung des Chloroforms entdeckt und dieses nach seiner erfolgreichen Anwendung bei der Narkose des Menschen durch *Simpson* seinen Siegeszug als Narkotikum über die ganze Erde angetreten hatte, lag es nahe, auch die drei übrigen ehlo-rierten Methane auf ihre eventuelle Eignung für die Narkose zu erproben.

Auf die anaesthetisierende Wirkung des Tetrachlorkohlenstoffs oder Chlormethans, CCl_4 , wurde erstmalig 1865 ebenfalls von *Simpson* hingewiesen. Die weiteren Untersuchungen ergaben zwar die Brauchbarkeit dieses Körpers für leichtere Narkosen, seiner allgemeinen Anwendung steht aber seine geringe therapeutische Wirkungsbreite sowie seine Wirkung auf Herz und Atmung und, wie wir heute wissen, sein schädigender Einfluß auf Leber und Nieren entgegen. Dagegen hat sich Tetrachlorkohlenstoff in ganz anderer Hinsicht einen gesicherten Platz im Arzneischatz erobert: Es wurde 1921 von *Hall* als Wurmmittel empfohlen und hat sich seither bei millionenfacher Anwendung (*Minot*) besonders in den Tropen als bestes Mittel gegen den Hakenwurm (*Ankylostoma duodenale*) bewährt. Bei innerlicher Darreichung von Dosen, die 6 g für den erwachsenen Menschen nicht überschreiten sollen, ist die Anwendung des Mittels, besonders wenn es gleichzeitig mit Bitterwasser genommen und nur ein reines Präparat gegeben wird, völlig gefahrlos. Trotz der außerordentlich verbreiteten Anwendung sind nur wenige ernste Schädigungen und Todesfälle bekannt geworden, wobei diese wahrscheinlich auf Verunreinigungen oder Überdosierung zurückzuführen sind.

Im Gegensatz zum Tetrachlorkohlenstoff hat sich das Methylenchlorid oder Dichlormethan, CH_2Cl_2 , auf dessen anaesthetisierende Wirkung 1867 *Richardson* aufmerksam machte, recht gut bewährt. Die anfänglichen Mißerfolge waren darauf zurückzuführen, daß die ersten Untersucher kein Methylenchlorid sondern Gemische von Chloroform mit Äthyl- und Methylalkohol in Händen hatten. Nachdem es gelungen war, im Solaesthin ein reines Methylenchlorid in den Handel zu bringen, hatte man ein Narkoticum, das sich zwar nicht zur Vollnarkose eignet, da bei länger fortgesetzter tiefer Narkotisierung eine Kreislaufschädigung droht, das aber zur Erreichung des analgetischen Stadiums bei vorsichtiger Dosierung protrahiert anwendbar ist, sich ausgezeichnet z. B. zur Fortsetzung der Avertin-Basisnarkose oder

zur Erzielung einer kurzen Rauschnarkose oder zur Einleitung der Vollnarkose verwenden läßt.

Dem Versuch, das bei einer Temperatur über -24° schon dampfförmige Methylechlorid oder Chlormethan, $\text{CH}_3 \cdot \text{Cl}$, als Narkoticum zu verwenden, standen die bei allen gasförmigen Betäubungsmitteln ursprünglich vorhandenen apparativen Schwierigkeiten der Dosierung im Wege. Als man diese neuerdings gleichzeitig mit der Einführung der gasförmigen Narkosemittel wie Acetylen, Äthylen oder Stickoxydul überwunden hatte, hatte man inzwischen durch gewerbehygienische, unliebsame Erfahrungen und experimentelle Studien, die sich an diese Vorkommnisse anschlossen, gelernt, daß Methylechlorid ein nur schwaches Narkoticum ist, während ihm eine gewisse Giftwirkung auf das Nervensystem zukommt, so daß es als Narkoticum kaum Verwendung gefunden hat. Dagegen hat Methylechlorid wegen seiner durch die lebhafte Verdampfung der Flüssigkeit bedingten Fähigkeit, eine intensive Kälteanästhesie hervorzu- bringen, Bedeutung als Lokalanæstheticum in der kleinen Chirurgie und zur Behandlung von Neuralgien und nervösem Hautjucken erlangt. Da es erst bei 5 Atm. Überdruck flüssig wird, ist seine Anwendung allerdings nur in soliden, festschließenden Metallbehältern möglich, dementsprechend umständlicher als die des Äthylechlorids. Besonders geeignet ist es in Kombination mit Äthylechlorid, dessen Siedetemperatur es herabsetzt und dessen leichte Entflammbarkeit dadurch weitgehend eingeschränkt wird.

Wenn die Nichtbrennbarkeit der chlorierten Methane schon bei ihrer therapeutischen Anwendung, z. B. gegenüber dem Äther oder Äthylechlorid einen gewissen Vorteil darstellt, so ist dieses Moment von größter Bedeutung bei ihrem technischen Gebrauch. Sie sind ausgezeichnete Lösungsmittel für die verschiedensten Zwecke, und dementsprechend ist der Umfang ihrer Verwendung, trotz ihrer gegenüber den reinen Kohlenwasserstoffen oder Alkoholen der Fettreihe — mit Ausnahme des Methanols — größeren

Auf die anaesthetisierende Wirkung des Tetrachlorkohlenstoffs oder Chlormethans, CCl_4 , wurde erstmalig 1865 ebenfalls von *Simpson* hingewiesen. Die weiteren Untersuchungen ergaben zwar die Brauchbarkeit dieses Körpers für leichtere Narkosen, seiner allgemeinen Anwendung steht aber seine geringe therapeutische Wirkungshöhe sowie seine Wirkung auf Herz und Atmung und, wie wir heute wissen, sein schädigender Einfluß auf Leber und Nieren entgegen. Dagegen hat sich Tetrachlorkohlenstoff in ganz anderer Hinsicht einen gesicherten Platz im Arzneischatz erworben: Es wurde 1921 von *Hall* als Wurmmittel empfohlen und hat sich seither bei millionenfacher Anwendung (*Minot*) besonders in den Tropen als bestes Mittel gegen den Hakenwurm (*Ankylostoma duodenale*) bewährt. Bei innerlicher Darreichung von Dosen, die 6 g für den erwachsenen Menschen nicht überschreiten sollen, ist die Anwendung des Mittels, besonders wenn es gleichzeitig mit Bitterwasser genommen und nur ein reines Präparat gegeben wird, völlig gefahrlos. Trotz der außerordentlich verbreiteten Anwendung sind nur wenige ernste Schädigungen und Todesfälle bekannt geworden, wobei diese wahrscheinlich auf Verunreinigungen oder Überdosierung zurückzuführen sind.

Im Gegensatz zum Tetrachlorkohlenstoff hat sich das Methylenchlorid oder Dichlormethan, CH_2Cl_2 , auf dessen anaesthetisierende Wirkung 1867 *Richardson* aufmerksam machte, recht gut bewährt. Die anfänglichen Mißerfolge waren darauf zurückzuführen, daß die ersten Untersucher kein Methylenchlorid sondern Gemische von Chloroform mit Äthyl- und Methylalkohol in Händen hatten. Nachdem es gelungen war, im Solvaesthin ein reines Methylenchlorid in den Handel zu bringen, hatte man ein Narkoticum, das sich zwar nicht zur Vollnarkose eignet, da bei länger fortgesetzter tiefer Narkotisierung eine Kreislaufschädigung droht, das aber zur Erreichung des analgetischen Stadiums bei vorsichtiger Dosierung protrahiert anwendbar ist, sich auszeichnet z. B. zur Fortsetzung der Avertin-Basisnarkose oder

zur Erzielung einer kurzen Rauschnarkose oder zur Einleitung der Vollnarkose verwenden läßt.

Dem Versuch, das bei einer Temperatur über -24° schon dampfförmige Methylchlorid oder Chlormethan, $\text{CH}_3 \cdot \text{Cl}$, als Narkoticum zu verwenden, standen die bei allen gasförmigen Betäubungsmitteln ursprünglich vorhandenen apparativen Schwierigkeiten der Dosierung im Wege. Als man diese neuerdings gleichzeitig mit der Einführung der gasförmigen Narkosemittel wie Aethylen, Äthylen oder Stickoxydul überwunden hatte, hatte man inzwischen durch gewerbehygienische, unliebsame Erfahrungen und experimentelle Studien, die sich an diese Vorkommnisse anschlossen, gelernt, daß Methylchlorid ein nur schwaches Narkoticum ist, während ihm eine gewisse Giftwirkung auf das Nervensystem zukommt, so daß es als Narkoticum kaum Verwendung gefunden hat. Dagegen hat Methylchlorid wegen seiner durch die lebhafte Verdampfung der Flüssigkeit bedingten Fähigkeit, eine intensive Kälteanästhesie hervorzu- bringen, Bedeutung als Lokalanaestheticum in der kleinen Chirurgie und zur Behandlung von Neuralgien und nervösem Hautjucken erlangt. Da es erst bei 5 Atm. Überdruck flüssig wird, ist seine Anwendung allerdings nur in soliden, festschließenden Metallbehältern möglich, dementsprechend umständlicher als die des Aethylchlorids. Besonders geeignet ist es in Kombination mit Aethylchlorid, dessen Siedetemperatur es herabsetzt und dessen leichte Entflammbarkeit dadurch weitgehend eingeschränkt wird.

Wenn die Nichtbrennbarkeit der chlorierten Methane schon bei ihrer therapeutischen Anwendung, z. B. gegenüber dem Äther oder Aethylchlorid einen gewissen Vorteil darstellt, so ist dieses Moment von größter Bedeutung bei ihrem technischen Gebrauch. Sie sind ausgezeichnete Lösungsmittel für die verschiedensten Zwecke, und dementsprechend ist der Umfang ihrer Verwendung, trotz ihrer gegenüber den reinen Kohlenwasserstoffen oder Alkoholen der Fettreihe — mit Ausnahme des Methanols — größeren

toxikologischen Wirksamkeit, ein recht beträchtlicher. Das schon weit unter 0° siedende Methylchlorid spielt als Lösungsmittel natürlich keine Rolle, doch hat es neuerdings als Füllmittel für Kältemaschinen eine große technische Bedeutung erhalten. Auch Tetrachlorkohlenstoff hat neben seiner ausgedehnten Verwertbarkeit als Lösungs- und Extraktionsmittel noch ein Spezialanwendungsgebiet als Fenerlöschmittel gefunden.

Im großen und ganzen ist die Wirkungsweise der vier chlorierten Methanverbindungen untereinander qualitativ sehr ähnlich. Sie ist vom Chloroform allgemein bekannt und besteht bei der akuten Einwirkung in mehr oder minder starker Reizung der Schleimhäute; in der Folge stellen sich Erregungserscheinungen wie Zittern, Schwanken und andere Koordinationsstörungen, unter Umständen leichte Krämpfe, ein. Dann folgt das Stadium der zentralen Lähmung. Es besteht aus Erschlaffung der Muskeln, Schwinden der Reflexe, Blässe, verlangsamter Atmung. Bei allzuweit fortgesetzter Einatmung kann Tod durch Atemstillstand eintreten oder erlahmt der Herzmuskel oder stellt sich auch eine Störung der nervösen Koordination der Herztätigkeit ein. Bisweilen kommt bei plötzlicher Überfüllung rasche Herzlähmung zur Beobachtung: „primärer Chloroformkollaps“. Längere Einatmung kann degenerative Veränderungen an Herz, Leber und Nieren oder anderen Organen verursachen.

Im einzelnen sind merkliche Unterschiede der Verträglichkeit der vier Derivate sowohl bei der akuten wie besonders bei der chronischen Einwirkung zu bemerken, auch ist das Gefahrenmoment entsprechend der unterschiedlichen Flüchtigkeit der Körper und der Art ihrer gewerblichen Anwendung verschieden.

Chlormethyl ist eine Substanz mit verhältnismäßig geringer und rasch vorübergehender narkotischer Wirkung. Es nimmt als Monosubstitutionsprodukt des Methans, dem die Methylgruppe CH_3 eigen ist, insofern eine besondere Stellung unter den chlorierten Methanen ein, als sich aus ihm im Organismus aller Voraussicht nach unter Abspaltung von Salzsäure

Methylalkohol bildet. Für dessen Entstehung spricht u. a. auch der Nachweis von Ameisensäuren Salzen, der im Harn methylochloridvergifteter Menschen geführt wurde. Der Methylalkohol speichert sich im Körper während der Einwirkung des Methylchlorids und entfaltet seine charakteristische Giftwirkung auf das Nervensystem und andere Organe. Schwere Vergiftungen sind daher möglich, auch wenn längere Zeit Konzentrationen eingeatmet werden, die an sich nicht zur Narkose führen.

7 Vol.-% $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Stunde eingeatmet, erzeugten bei der Maus leichte Narkose, während 1 Vol.-% bei 4 Stunden langer Einwirkung den Tod verursachte (*Schwarz*). Beim Hund bewirkten 17 Vol.-% nach $\frac{1}{2}$ Stunde Ataxie, nach $\frac{3}{4}$ Stunde Schlaf; nach 1 Stunde Einwirkung trat wieder Erholung ein. 37 Vol.-% führten nach 10 Minuten Unruhe und Speichelfluß herbei, nach 18 Minuten Erbrechen, nach 25 Minuten Atemnot. Auch dieses Tier erholte sich nach 1 Stunde Einwirkung wieder. 46 Vol.-% 1 Stunde eingeatmet, führten jedoch innerhalb 24 Stunden zum Tode. Über die chronische Wirkung des Gases auf verschiedene Tiere, die sich in anfänglichen Erregungszuständen, dann Lähmungen, Abmagerungen und Erkrankungen der Atmungsorgane äußert, orientiert die folgende Tabelle nach Versuchen von *Schwarz*.

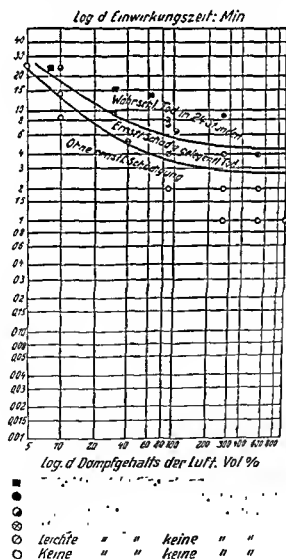
Chronische Einwirkung von Methylchlorid auf Tiere.

Konzentration		Dauer der Einwirkung	Maus	Meerschweinchen
mg/Ltr etwa	Teile Gas in Vol.-%			
30	15	je 15 Min. lang an zwei aufeinanderfolgenden Tagen	Keine erkennbare Wirkung	Nach d. 1. Tage scheinbar erholt, nach dem 2. Tage Tod binnen 24 Stunden
6	3	anschließend 51mal binnen 105 Tagen je 15 Min., zuletzt noch 6mal 1 Std.	Tod	—
6	3	je 15 Min. lang insgesamt 47mal binnen 112 Tagen mit zwei Zwischenpausen von 10 bzw. 25 Tagen	—	Nach den ersten 15 Einatmungen Erholung, nach den folgenden 12: schlechte Erholung, nach den letzten 20: Tod unter Krämpfen
6	3	je 15 Min. 11—15mal binnen 18 Tagen	—	Tod
6	3	je 15 Min. an drei aufeinanderfolgenden Tagen	—	Tod

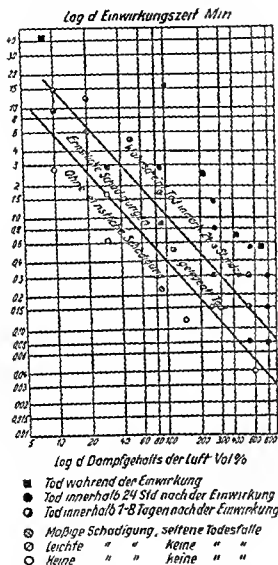
Bei der Sektion zeigten sich Hyperämie, teilweise auch Blutungen in den inneren Organen, bei behandelten Kaninehen auch Bronchopneumonie.

Daß der Zeitfaktor bei der Wirkung kleiner Mengen beim Methylchlorid im Gegensatz zum Äthylchlorid eine Rolle spielt, d. h. also, daß mit der Zeit eine Kumulation des Giftes eintritt, geht auch aus den beiden folgenden Kurvenzeichnungen von *Sayers, Yant, Thomas und Berger* hervor, in denen Zeit und Konzentration logarithmisch ausgewertet wurden. Bei Äthylchlorid können wenigstens niedrige Konzentrationen zeitlich

Giftigkeitskurve für Äthylchlorid



Giftigkeitskurve für Methylchlorid



unbegrenzt ertragen werden, ganz anders jedoch bei Methylchlorid, bei dem die Kurve deutlich auf die Einwirkung der Zeit hinweist. Beim Menschen hestehen die Symptome der kurzdanernden Einwirkung mäßiger Mengen in Kopfweh, Schlagsucht, Übelkeit, Erbrechen, Schwanken; bei chronischer Einwirkung kleiner Mengen in Schwindel, rauschartigen Zuständen, Apathie, Appetitmangel, Schlagsucht, Muskelschwäche, unsicherem Gang, Sehstörungen, unter Umständen mit nachfolgendem Tod.

Die Verwendung des Methylehlorids in Kältemaschinen bringt Gefahren mit sich, da bei der Flüchtigkeit der Substanz bei Undichtigkeiten allmählich völlige Verdampfung eintreten muß. So sind in den letzten Jahren eine ganze Reihe von Vergiftungen aus Amerika gemeldet worden. 1928/29 kamen in Ohikago 29 Methylehloridvergiftungen vor, davon endigten 10 tödlich. Die meisten entstanden in Privathaushaltungen in Häuserblocks, welche mit Zentralkühlanlagen mit direktem Kältemittelumpump ohne Zwischensehaltung von Kältesole versehen waren. Daß derartige Anlagen, bei denen bei Undichtigkeit größte Mengen Methylehlorid zu entweichen vermögen, hygienischerseits nicht gebilligt werden können, versteht sich von selbst. In Deutschland sind sie nicht üblich. Bei uns enthält eine Anlage in der Regel nicht mehr als 1 kg Methylehlorid, wodurch die Gefahr wesentlich gemildert ist. Vorsicht und Kenntlichmachung des Gases durch Beimengung alarmierender Geruchsstoffe sind aber auf alle Fälle geboten. Letzteres wird schon weitgehend durchgeführt. Der beliebte Hinweis darauf, daß andere in Betracht kommende Füllmittel für Kältemaschinen, wie schweflige Säure und Ammoniak, weit gefährlicher seien als Methylehlorid, ist unstatthaft, da derartig reizende Gase in allen Fällen auch den Schlafenden wecken und den Gefährdeten zur Flucht zwingen, während dies beim narkotisch wirkenden Methylehlorid begreiflicherweise nicht der Fall ist, durch die allenfalls eintretende Narkose die Gefahr sogar noch vergrößert wird.

Methylenchlorid gleicht in seiner Wirkung sehr dem Chloroform. Es ist ein Narkoticum von verhältnismäßig rasch vorübergehender Wirkung und geringer Giftigkeit, jedoch ist die lokale Reizwirkung stärker als die des Chloroforms. Auf seine Anwendungsweise ist schon oben hingewiesen worden. Es siedet bei 41—42° und verdunstet etwa 1,8mal langsamer als Äther.

Bei Mäusen erzielte die 2stündige Einwirkung unter 0,7 Vol.-% keine Wirkung, von 0,87—1 Vol.-% Seitenlage, von

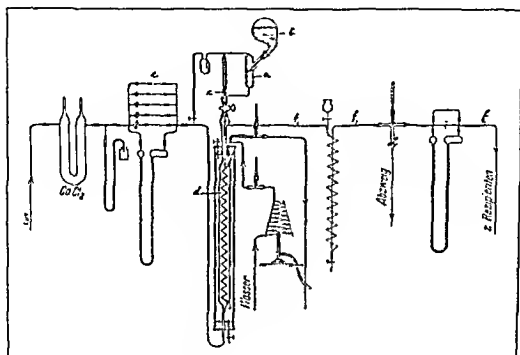
mindestens 1 Vol.-% tiefe Narkose, ab etwa 1,5 Vol.-% den Tod. Bei 1½ stündiger Einwirkung von 1,8 Vol.-% erfolgte der Tod nach ½ Stunde bis 5 Tagen (*Müller*). Kaninehen sollen gegen Metbylenchlorid nach *Flury* empfindlicher sein als die übrigen Versuchstiere.

Müller fand in seinen Mäuseversuchen zwischen dem technischen Methylenchlorid und dem Narkosemittel Solacsthin insofern einen Unterschied, als die Organe der Methylenchloridtiere zum Teil fettige Degenerationen aufwiesen, während die Solacsthin-Tiere normale Organe hatten.

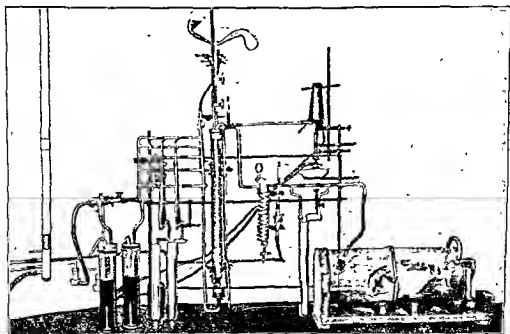
Gewerbliche Vergiftungen mit technischem Methylenchlorid sind bisher nicht bekannt geworden. Nachdem jedoch neuerdings dieser Körper in großem Umfange auch als ausgezeichnetes Abbeizmittel für Farblacke n. a. mehr Verwendung gefunden hatte, wurde wegen der hohen Flüchtigkeit der Substanz, die allerdings in den Abbeizmitteln durch Zusatz von Verdunstungsverzögerern wie Paraffin usw. herabgesetzt wird, die Untersuchung auf eine etwaige chronische Einwirkung kleiner, im akuten Versuch unterschwelliger Mengen, die noch fehlte, notwendig.

Für derartige, sich über viele Wochen hinziehende Versuche hat sich uns besonders die von *Gross* und *Kuss* angegebene Inhalationsapparatur bewährt, die es ermöglicht, flüchtige Flüssigkeiten in jeder gewünschten Konzentration mit stets gleichbleibender Exaktheit zu verdampfen. Das Prinzip der Apparatur ist das folgende: Aus einem Vorratsgefäß (*a*), dessen Flüssigkeitsniveau während des Versuchs durch auswechselbare Birnen (*b*) stets konstant gehalten wird, läuft die zu verdampfende Flüssigkeit durch eine der Viskosität der Flüssigkeit und der beabsichtigten Dosierung angepaßte Kapillare (*c*) in einen eventuell heizbaren Verdampfungsraum (*d*), in den im Gegenstrom Luft, die durch ein Strömungsmanometer (*e*) genau dosiert ist, getrieben wird. Dieses Luft-Dampf-Gemisch wird über *fff* durch den Tierraum geleitet, so daß die Versuchstiere in stets frischer Luft, welcher der in Betracht kommende Dampf in ständig gleichbleibender Konzentration beigemengt ist, leben. Gewichtsverlust

der Vorratsgefäße dividiert durch Volumen der zuströmenden Luft ergibt die Konzentration. Die Apparatur ist so konstruiert, daß Mischungen in den weitesten Grenzen möglich sind.



Inhalationsapparat nach Gross und Kuss



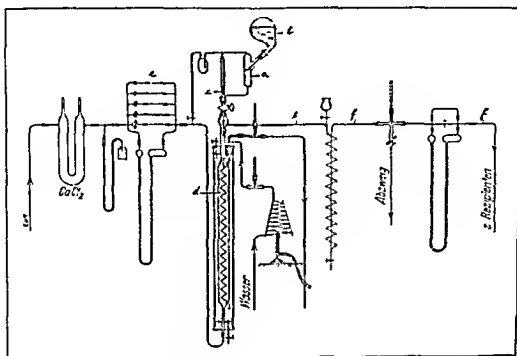
Da nach *Flury-Müller* die Grenze für das mögliche Auftreten einer Narkose beim 8-Stunden-Versuch bei etwa $15 \text{ mg/l} = 0,45 \text{ Vol.-%}$ liegt, wählten wir für unsere chronischen Versuche Konzentrationen von $5 \text{ mg/l} = 0,15 \text{ Vol.-%}$ bzw. $10 \text{ mg/l} = 0,3 \text{ Vol.-%}$.

18 Ratten wurden in den Versuch genommen und jeweils 5 Tiere nach 25, 50 und 75 täglichen (8stündigen) Inhalationen einer Konzentration von 5 mg/l Luft getötet und histologisch untersucht. Keines der Tiere bot während des Versuchs Krankheitszeichen; die drei nicht getöteten wurden weiterhin beobachtet und blieben gesund. Die erste Serie Ratten ließ an keinem Organ irgend einen pathologischen Befund erkennen. Bei der zweiten Serie waren pathologische Veränderungen in schwacher Andeutung erkennbar, die jedoch erst bei der letzten Serie etwas deutlicher zum Ausdruck kamen. Diese Veränderungen bestanden in der Ausbildung einer leichten Atrophie und Verfettung der Leber im Gebiet der Zentralvenen und der vereinzelt zu beobachtenden Einlagerung von kleinen Rundzelleninfiltrationen im Parenchym und Zwischengewebe. Alle anderen Organe sowie das Blutbild boten einen normalen Befund. Diese Ergebnisse, die durch entsprechende Versuche an Kaninchen mit 10 mg/l Luft, die ganz ähnliche Resultate zeitigten, ergänzt wurden, beweisen, daß Methylenchlorid auch bei sehr lange Zeit fortgesetzter Inhalation gar nicht sehr niedriger Dosen kaum eine schädigende Wirkung besitzt.

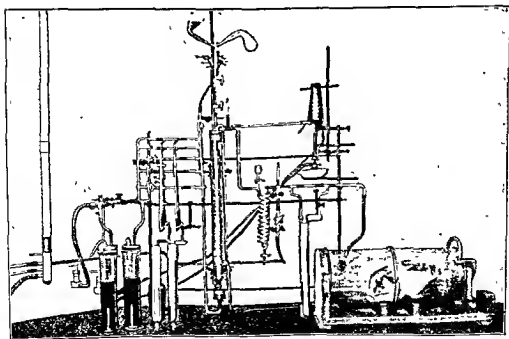
Anders verhalten sich hierin die beiden höher chlorierten Methane Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff.

Über die akut wirksamen Dosen des Chloroforms, das bei 61° siedet und 2,5mal langsamer als Äther verdunstet, sind von zahlreichen Autoren an den verschiedensten Tierarten Untersuchungen durchgeführt worden. Die narkotische wie die tödliche Mindestkonzentration ist für jede Tierart verschieden. Konzentrationen bis zu etwa $12 \text{ mg/l} = 0,25 \text{ Vol.-%}$ können in der Regel von allen Tieren mehrere Stunden lang ohne stärkere

der Vorratsgefäße dividiert durch Volumen der zuströmenden Luft ergibt die Konzentration. Die Apparatur ist so konstruiert, daß Mischungen in den weitesten Grenzen möglich sind.



Inhalationsapparatur nach Gross und Kuss



zu degenerativen Veränderungen der parenchymatösen Organe neigen.

In eigenen Rattenversuchen, die wir chronisch mit 5 mg Chloroform/l Luft = 0,1 Vol.-% analog den Versuchen mit Methylenchlorid durchführten, blieben alle Tiere während der Versuchsdauer ohne äußere Krankheitszeichen am Leben. Von den Tieren mit 75 Versuchstagen gingen allerdings zwei längere Zeit nach Beendigung der Versuche zugrunde. Die 25-Tage-Tiere zeigten in der Leber vorwiegend circumacinäre Verfettung, geringfügige Atrophie des Parenchyms und geringe Zelleinlagerungen in den veränderten Gewebsteilen. Dieser Befund nahm bei den Serien mit 50 und 75 Versuchstagen an Ausdehnung zu. Ausgesprochene nekrotische Partien wurden jedoch in relativ bescheidenem Umfang nur an den beiden spontan längere Zeit nach dem Versuch eingegangenen Tieren gefunden. Bei entsprechenden Versuchen an Kaninchen mit der höheren Konzentration von 10 mg pro Liter Luft gingen die Versuchstiere allerdings in 3—17 Tagen zugrunde. Die Tiere hatten ausnahmslos eine starke Eiweißausscheidung. Die Sektion zeigte — neben entzündlichen Prozessen der Atmungsorgane — an der Leber vorwiegend zentrale Hyperämie, Atrophie, Verfettung und degenerative Prozesse, in einem Fall bis zu herdförmigen Nekrosen. Die Nieren wiesen in der Schleifenzone eine Hyperämie und geringfügige degenerative Prozesse an den Epithelzellen auf. Wir glauben demnach, daß bei der chronischen Inhalation wenigstens kleiner Mengen Chloroform (bis 5 mg/l) der Leberschädigung, die erst bei höheren Konzentrationen deutlich wird, keine besondere Rolle zukommt, daß eher die sonst von dem chronischen Chloroformmißbrauch (Chloroformismus) bekannten Erscheinungen wie Verdauungsstörungen, Ahmagerung, Kachexie, Nervosität, Schlaflosigkeit, Depression, Halluzinationen, Geisteskrankheiten usw. auftreten könnten. Bisher hat das Chloroform keine erhebliche gewerbemedizinische Bedeutung.

Wirkung inhaliert werden. Konzentrationen, die wenig darüber liegen, können schon nach $\frac{1}{2}$ —1 Stunde Narkose hervorrufen, 20 mg/l = 0,41 Vol.-% schon nach 2stündiger Inhalation den Tod zur Folge haben. Beim Menschen gelten nach *Flury* ungefähr folgende Zahlen:

5—10 Min. eingeatmet	tödlich	120 mg/l = 2,5 Vol.-%
$\frac{1}{2}$ —1 Std. eingeatmet	gefährlich	75 mg/l = 1,5 Vol.-%
$\frac{1}{2}$ —1 Std. eingeatmet	erträglich	24 mg/l = 0,5 Vol.-%

Die narkotische Dosis beim Menschen ist individuell verschieden, in der Regel 1,4—1,6 Vol.-% = 70—80 mg/l Luft. Der Spielraum zwischen narkotischer und toxischer Konzentration beträgt nur etwa 1 Vol.-%. In diesem Umstand ist für die gewerbliche Verwendung des Chloroforms natürlich eine gewisse Gefahr zu erblicken. Sollte durch zufällige Inhalation von Mengen, die zur Narkose führen, Bewußtlosigkeit eintreten und der Befallene in der Chloroformatmosphäre liegen bleiben, so ist immer Gefahr im Verzuge. Auch die schon in der Chirurgie gefürchtete Spätwirkung von Chloroform ist hier zu berücksichtigen. Der Tod kann im Anschluß an langdauernde Narkosen erst nach Stunden oder Tagen eintreten. Es handelt sich dann um eine toxische Schädigung des Herzmuskels oder bei langem Intervall um solche anderer parenchymatöser Organe, besonders der Leber, die das Bild der akuten gelben Leberatrophie aufweisen kann. Der Leberveränderung, die besonders in Verfettung, Atrophie und Nekrose des parenchymatösen Gewebes besteht, hat neben einer Reihe anderer Autoren besonders *Graham* Aufmerksamkeit gewidmet. *Graham* nimmt an, daß aus den gechlorten Methanen Salzsäure abgespalten werde und diese für die Entstehung der Nekrose verantwortlich sei, entsprechend nehme die Leberschädigung mit zunehmendem Chlorgehalt von Chloroform zum Tetrachlorkohlenstoff zu. *Fühner* hingegen vertritt die Auffassung, daß diejenigen Stoffe, aus denen sich intermediär Phosgen bilden könne, wie Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff (im Gegensatz zu Methylenchlorid), besonders leicht

zu degenerativen Veränderungen der parenchymatösen Organe neigen.

In eigenen Rattenversuchen, die wir chronisch mit 5 mg Chloroform/l Luft = 0,1 Vol.-% analog den Versuchen mit Methylenchlorid durchführten, blieben alle Tiere während der Versuchsdauer ohne äußere Krankheitszeichen am Leben. Von den Tieren mit 75 Versuchstagen gingen allerdings zwei längere Zeit nach Beendigung der Versuche zugrunde. Die 25-Tage-Tiere zeigten in der Leber vorwiegend circumscinäre Verfettung, geringfügige Atrophie des Parenchyms und geringe Zelleinlagerungen in den veränderten Gewebsteilen. Dieser Befund nahm bei den Serien mit 50 und 75 Versuchstagen an Ausdehnung zu. Ausgesprochene nekrotische Partien wurden jedoch in relativ bescheidenem Umfang nur an den beiden spontan längere Zeit nach dem Versuch eingegangenen Tieren gefunden. Bei entsprechenden Versuchen an Kaninchen mit der höheren Konzentration von 10 mg pro Liter Luft gingen die Versuchstiere allerdings in 3—17 Tagen zugrunde. Die Tiere hatten ausnahmslos eine starke Eiweißausscheidung. Die Sektion zeigte — neben entzündlichen Prozessen der Atmungsorgane — an der Leber vorwiegend zentrale Hyperämie, Atrophie, Verfettung und degenerative Prozesse, in einem Fall bis zu herdförmigen Nekrosen. Die Nieren wiesen in der Schleifenzone eine Hyperämie und geringfügige degenerative Prozesse an den Epithelzellen auf. Wir glauben demnach, daß bei der chronischen Inhalation wenigstens kleiner Mengen Chloroform (bis 5 mg/l) der Leberschädigung, die erst bei höheren Konzentrationen deutlich wird, keine besondere Rolle zukommt, daß eher die sonst von dem chronischen Chloroformmißbrauch (Chloroformismus) bekannten Erscheinungen wie Verdauungsstörungen, Abmagerung, Kachexie, Nervosität, Schlaflosigkeit, Depression, Halluzinationen, Geisteskrankheiten usw. auftreten könnten. Bisher hat das Chloroform keine erhebliche gewerbemedizinische Bedeutung.

Tetrachlorkohlenstoff siedet bei 76—77° und verdunstet dreimal so langsam wie Äther. Die wirksamen, d. h. narkotischen Grenzdosen schwanken hier unter den einzelnen Tierarten noch stärker als beim Chloroform. *Müller* gibt an, daß bei der Maus

20 mg/l = 0,40 Vol.-% in 1½ Stunden noch nicht zur Narkose führen,

44 mg/l = 0,7 Vol.-% in 1¼ Stunden Seitenlage von ¾ Stunde,

58 mg/l = 0,92 Vol.-% in 70 Minuten Seitenlage von ½ Stunde

hervorrufen.

Bemerkenswert ist, daß in den *Müller*sehen und den Versuchen einiger anderer Autoren der Tod nachträglich nach Tagen eintritt, sobald die Tiere eine längere Zeit mehr oder weniger tief narkotisiert waren, zuweilen aber auch schon dann, wenn es gar nicht zur Narkose gekommen war. Als Narkotikum ist Tetrachlorkohlenstoff demnach unbrauchbar. Die Giftigkeit des Tetrachlorkohlenstoffs für den Menschen ist nach *Flury* folgendermaßen:

Nach 5—10 Minuten langer Einatmung tödlich 320 mg/l = 5 Vol.-%.

Bei ½—1 stündiger Einatmung gefährlich 160 mg/l = 2,5 Vol.-%.

½—1 Stunde Einatmung erträglich 60 mg/l = 1 Vol.-%.

Durch seine Einführung als Mittel gegen *Ankylostoma duodenale* durch *Hall* 1921 ist das Interesse der Pharmakologen an Tetrachlorkohlenstoff wieder wesentlich reger geworden. Es hat sich gezeigt, daß seine Anwendung in den kleinen bei der Therapie vorgeschriebenen Dosen, z. B. 3—4, höchstens 5 Kapseln Sere-tin (zu je 1,2 g reinem Tetrachlorkohlenstoff), am besten zusammen mit etwas Magnesium sulfuricum völlig gefahrlos genannt werden darf. Es ist zweifelhaft, ob die wenigen Erkrankungs- und Todesfälle, die in der Literatur beschrieben worden sind, auf die geringen Mengen Tetrachlorkohlenstoff als solchen zurückzuführen sind. Wahrscheinlich hat es sich dabei um unreine Produkte gehandelt. Alle Erfahrungen sprechen aber dafür, daß

die Aufnahme größerer Tetrachlorkohlenstoffmengen, wie sie besonders bei unbegrenzter Inhalation oder auch durch die verletzte, z. B. verbrannte Haut (*Kionka*) möglich ist, eine große Gefahr bedeutet und besonders bei öfterer Wiederholung oder längerer Einwirkung zu schwersten Nekrosen des Leberparenchyms und, falls hierzu noch Zeit vorhanden ist, zur Bildung einer Leberzirrhose vom Typus der *Laennecsehen* Zirrhose führt. Teilweise bilden sich auch Nierenentzündungen aus. Nach *Lamson* und *Wing* lassen sich beim Hund schon auf orale Gaben von 0,25 cem/kg hin vorübergehende Störungen der Leberfunktion, wie Sinken des Fibrin- und Ansteigen des Gallenfarbstoffgehalts des Blutes, verringerte Lävulose toleranz und Störung des Phenoltetrachlorphthaleintestes der Leber, beobachten. *Davis* weist an Hand von Versuchen an Hunden auf die große Bedeutung der Diät für die Empfindlichkeit gegen Tetrachlorkohlenstoff hin. Die normale, eiweißreiche, gemischte Kost ist ohne besonderen Einfluß, ebenso wenig wie Hunger, kohlenhydratreiche Kost bietet einen großen Schutz, während fettreiche Ernährung die Empfindlichkeit außerordentlich steigert. *Minot* und allerjüngst *Hall* beschreiben eine starke Erhöhung der Empfindlichkeit bei Hypokalzämie, während umgekehrt durch kalkreiche Ernährung die Empfindlichkeit herabgesetzt wird. Bei akuter Schädigung (tetanusähnliche Krämpfe) wurden Hunde durch intravenöse Calciumchloridinjektionen gerettet. Es empfiehlt sich diese Maßnahme auch bei akuten Tetrachlorkohlenstoffvergiftungen des Menschen.

Bei chronischen Inhalationsversuchen, die wir in Analogie mit denen bei Methylenchlorid und Chloroform an Ratten mit 5 mg/l Luft = 0,083 Vol.-% und Kaninchen mit 10 mg/l Luft = 0,166 Vol.-% ausführten, sprang in die Augen, daß die meisten Tiere noch während der Versuchsdauer (zwischen 11 und 27 mal 8 Stunden) eingingen. Nur zwei Ratten erlebten den 75. Versuchstag. Eine verendete unmittelbar darauf spontan, die andere wurde getötet. In allen Fällen war hochgradige Verfettung,

Tetrachlorkohlenstoff siedet bei 76—77° und verdunstet dreimal so langsam wie Äther. Die wirksamen, d. h. narkotischen Grenzdosen schwanken hier unter den einzelnen Tierarten noch stärker als beim Chloroform. Müller gibt an, daß bei der Maus

20 mg/l = 0,46 Vol.-% in 1½ Stunden noch nicht zur Narkose führen,

44 mg/l = 0,7 Vol.-% in 1¼ Stunden Seitenlage von ¾ Stunde,

58 mg/l = 0,92 Vol.-% in 70 Minuten Seitenlage von ½ Stunde

hervorrufen.

Bemerkenswert ist, daß in den Müllerschen und den Versuchen einiger anderer Autoren der Tod nachträglich nach Tagen eintritt, sobald die Tiere eine längere Zeit mehr oder weniger tief narkotisiert waren, zuweilen aber auch schon dann, wenn es gar nicht zur Narkose gekommen war. Als Narkotikum ist Tetrachlorkohlenstoff demnach unbrauchbar. Die Giftigkeit des Tetrachlorkohlenstoffs für den Menschen ist nach Flury folgendermaßen:

Nach 5—10 Minuten langer Einatmung tödlich 320 mg/l = 5 Vol.-%.

Bei ½—1 stündiger Einatmung gefährlich 160 mg/l = 2,5 Vol.-%.

½—1 Stunde Einatmung erträglich 60 mg/l = 1 Vol.-%.

Durch seine Einführung als Mittel gegen *Ankylostoma duodenale* durch Hall 1921 ist das Interesse der Pharmakologen an Tetrachlorkohlenstoff wieder wesentlich reger geworden. Es hat sich gezeigt, daß seine Anwendung in den kleinen bei der Therapie vorgeschriebenen Dosen, z. B. 3—4, höchstens 5 Kapseln Sere-tin (zu je 1,2 g reinem Tetrachlorkohlenstoff), am besten zusammen mit etwas Magnesium sulfuricum völlig gefahrlos genannt werden darf. Es ist zweifelhaft, ob die wenigen Erkrankungs- und Todesfälle, die in der Literatur beschrieben worden sind, auf die geringen Mengen Tetrachlorkohlenstoff als solchen zurückzuführen sind. Wahrscheinlich hat es sich dabei um unreine Produkte gehandelt. Alle Erfahrungen sprechen aber dafür, daß

die Aufnahme größerer Tetrachlorkohlenstoffmengen, wie sie besonders bei unbegrenzter Inhalation oder auch durch die verletzte, z. B. verbrannte Haut (*Kionka*) möglich ist, eine große Gefahr bedeutet und besonders bei öfterer Wiederholung oder längerer Einwirkung zu schwersten Nekrosen des Leberparenchyms und, falls hierzu noch Zeit vorhanden ist, zur Bildung einer Leberzirrhose vom Typus der *Laennec'schen* Zirrhose führt. Teilweise bilden sich auch Nierenentzündungen aus. Nach *Lamson* und *Wing* lassen sich beim Hund schon auf orale Gaben von 0,25 cem/kg hin vorübergehende Störungen der Leberfunktion, wie Sinken des Fibrin- und Ansteigen des Gallenfarbstoffgehalts des Blutes, verringerte Lävulose-toleranz und Störung des Phenoltetrachlorphthalointestes der Leber, beobachten. *Davis* weist an Hand von Versuchen an Hunden auf die große Bedeutung der Diät für die Empfindlichkeit gegen Tetrachlorkohlenstoff hin. Die normale, eiweißreiche, gemischte Kost ist ohne besonderen Einfluß, ebenso wenig wie Hunger, kohlenhydratreiche Kost bietet einen großen Schutz, während fettreiche Ernährung die Empfindlichkeit außerordentlich steigert. *Minot* und allerjüngst *Hall* beschreiben eine starko Erhöhung der Empfindlichkeit bei Hypokalzämie, während umgekehrt durch kalkreiche Ernährung die Empfindlichkeit herabgesetzt wird. Bei akuter Schädigung (tetanusähnliche Krämpfe) wurden Hunde durch intravenöse Calciumchloridinjektionen gerettet. Es empfiehlt sich diese Maßnahme auch bei akuten Tetrachlorkohlenstoffvergiftungen des Menschen.

Bei chronischen Inhalationsversuchen, die wir in Analogie mit denen bei Methylenchlorid und Chloroform an Ratten mit 5 mg/l Luft = 0,083 Vol.-% und Kanineben mit 10 mg/l Luft = 0,166 Vol.-% ausführten, sprang in die Augen, daß die meisten Tiere noch während der Versuchsdauer (zwischen 11 und 27 mal 8 Stunden) eingingen. Nur zwei Ratten erlebten den 75. Versuchstag. Eine verendete unmittelbar darauf spontan, die andere wurde getötet. In allen Fällen war hochgradige Verfettung,

Degeneration und Atrophie und Zellinfiltration vorhanden, bei den Tieren, die längere Zeit im Versuch waren, auch ausgedehnte Nekrose, bei den 75-Tage-Tieren Ausbildung einer Leberzirrhose festzustellen. Bei den Kaninchen, die zum Teil nur wenige (3 bis 6) Tage aushielten und dann zum größeren Teil an Lungenaffektionen zugrunde gingen, fiel auf, daß auch schon nach dieser kurzen Zeit eine schwere Alteration des Leberparenchyms in Form von beträchtlicher zentraler Hyperämie und fortgeschrittener, vorwiegend feintropfiger Verfettung eingetreten war.

Wir halten mit *K. B. Lehmann* die Verwendung von Tetrachlorkohlenstoff als Feuerlöschmittel für in der Regel ungefährlich und für zulässig, da die sich dabei entwickelnden Konzentrationen im allgemeinen nicht hoch werden, es sich meist nur um eine einmalige und rasch vorübergehende Einatemungsmöglichkeit handelt und die dabei unter ungünstigen Umständen auftretenden Phosgenmengen gefährliche Konzentrationen wohl extrem selten erreichen dürften. Dagegen weisen unsere Erfahrungen bei chronischen Versuchen eindeutig darauf hin, daß die lang fortgesetzte Einwirkung kleinster Mengen Tetrachlorkohlenstoff gefährlicher als die des Chloroforms und besonders als die des relativ harmlosen Methylenchlorids ist. Dementsprechend muß bei seiner Anwendung als Lösungs- und Reinigungsmittel und bei seiner fabrikatorischen Herstellung, auch wenn bisher nur wenige gewerbliche Vergiftungen aufgetreten sind, besondere Vorsicht geübt werden.

Über die Herzwirkung einiger Inhalationsnarkotica

DR. O. SCHAUMANN

Aus dem Pharmakologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG,
Werk Hoechst

Bei der Beurteilung des klinischen Wertes eines Narkoticums sind vor allem seine Nebenwirkungen in Betracht zu ziehen. Man muß dabei zwischen akuten, noch im Verlauf einer Narkose eintretenden Schädigungen und den im Anschluß an die Narkose sich zeigenden Spatfolgen unterscheiden. Die akuten Schädigungen können teils an den lebenswichtigen Zentren, wie Atem- und Vasomotoren-Zentrum, ihren Angriffspunkt haben, teils peripher an den Kreislauforganen, vor allem dem Herzen. Es liegt in der Natur der Narkose, daß von der erwünschten Ausschaltung der Bewußtseinsvorgänge über das Erlöschen der Reflexe bis zur Lähmung der Funktionen der vitalen Zentren und schließlich des Herzens fließende Übergänge bestehen. Es ist die Kunst des Narkotiseurs, die erwünschte Grenze einzuhalten und weder nach oben noch auch nach unten zu überschreiten. Das Wesen der Inhalationsnarkose ist eben ihre Steuerbarkeit, die Möglichkeit, in relativ kurzer Zeit die Konzentration des Narkoticums im Blut, von der ja die Narkosetiefe abhängt, zu verändern. Je rascher diese Änderung der Blutkonzentration erreicht werden kann, desto größer ist die Steuerbarkeit der Narkose und desto besser können Über- oder Unterschreitungen der Soll-Konzentration ausgeglichen werden. Während nun Schädigungen des Atemzentrums infolge Überdosierung bei intaktem Kreislauf je nach Steuerbarkeit des Narkoticums fast immer mehr oder weniger rasch durch künstliche Atmung wieder behoben werden können, haben Schädigungen der Herztätigkeit eine viel schlechtere Prognose; denn mit dem Versagen des Kreislaufs ist auch gleichzeitig die Möglichkeit der Ausscheidung des Narkoticums in gleichem Maße herabgesetzt. Deshalb besitzt die

Degeneration und Atrophie und Zellinfiltration vorhanden, bei den Tieren, die längere Zeit im Versuch waren, auch ausgedehnte Nekrose, bei den 75-Tage-Tieren Ausbildung einer Leberzirrhose festzustellen. Bei den Kaninchen, die zum Teil nur wenige (3 bis 6) Tage aushielten und dann zum größeren Teil an Lungenaffektionen zugrunde gingen, fiel auf, daß auch schon nach dieser kurzen Zeit eine schwere Alteration des Leberparenchyms in Form von beträchtlicher zentraler Hyperämie und fortgeschrittener, vorwiegend feintropfiger Verfettung eingetreten war.

Wir halten mit *K. B. Lehmann* die Verwendung von Tetrachlorkohlenstoff als Feuerlöschmittel für in der Regel ungefährlich und für zulässig, da die sich dabei entwickelnden Konzentrationen im allgemeinen nicht hoch werden, es sich meist nur um eine einmalige und rasch vorübergehende Einatmungsmöglichkeit handelt und die dabei unter ungünstigen Umständen auftretenden Phosgenmengen gefährliche Konzentrationen wohl extrem selten erreichen dürften. Dagegen weisen unsere Erfahrungen bei chronischen Versuchen eindeutig darauf hin, daß die lang fortgesetzte Einwirkung kleinster Mengen Tetrachlorkohlenstoff gefährlicher als die des Chloroforms und besonders als die des relativ harmlosen Methylenchlorids ist. Dementsprechend muß bei seiner Anwendung als Lösungs- und Reinigungsmittel und bei seiner fabrikatorischen Herstellung, auch wenn bisher nur wenige gewerbliche Vergiftungen aufgetreten sind, besondere Vorsicht geübt werden.

Über die Herzwirkung einiger Inhalationsnarkotica

DR. O. SCHAUMANN

Aus dem Pharmakologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG,
Werk Hoechst

Bei der Beurteilung des klinischen Wertes eines Narkotieums sind vor allem seine Nebenwirkungen in Betracht zu ziehen. Man muß dabei zwischen akuten, noch im Verlauf einer Narkose eintretenden Schädigungen und den im Anschluß an die Narkose sich zeigenden Spätfolgen unterscheiden. Die akuten Schädigungen können teils an den lebenswichtigen Zentren, wie Atem- und Vasomotoren-Zentrum, ihren Angriffspunkt haben, teils peripher an den Kreislauforganen, vor allem dem Herzen. Es liegt in der Natur der Narkose, daß von der erwünschten Ausschaltung der Bewußtseinsvorgänge über das Erlöschen der Reflexe bis zur Lähmung der Funktionen der vitalen Zentren und schließlich des Herzens fließende Übergänge bestehen. Es ist die Kunst des Narkotiseurs, die erwünschte Grenze einzuhalten und weder nach oben noch auch nach unten zu überschreiten. Das Wesen der Inhalationsnarkose ist eben ihre Steuerbarkeit, die Möglichkeit, in relativ kurzer Zeit die Konzentration des Narkotieums im Blut, von der ja die Narkosetiefe abhängt, zu verändern. Je rascher diese Änderung der Blutkonzentration erreicht werden kann, desto größer ist die Steuerbarkeit der Narkose und desto besser können Über- oder Unterschreitungen der Soll-Konzentration ausgeglichen werden. Während nun Schädigungen des Atemzentrums infolge Überdosierung bei intaktem Kreislauf je nach Steuerbarkeit des Narkotieums fast immer mehr oder weniger rasch durch künstliche Atmung wieder behoben werden können, haben Schädigungen der Herztätigkeit eine viel schlechtere Prognose; denn mit dem Versagen des Kreislaufs ist auch gleichzeitig die Möglichkeit der Ausscheidung des Narkotieums in gleichem Maße herabgesetzt. Deshalb besitzt die

experimentelle Prüfung der Herzwirkung bei Narkotica besondere Bedeutung.

Im folgenden sollen Versuche, die herzschädigenden Konzentrationen verschiedener Inhalationsnarkotica vergleichsweise zu bestimmen, beschrieben werden. Als Vergleichsbasis wurde als derzeit gebräuchlichstes Inhalationsnarkoticum der Äther genommen und mit ihm die chlorhaltigen Narkotica: Chloroform (CHCl_3) mit drei, Solaesthin (CH_2Cl_2) mit zwei und Vinylchlorid ($\text{CH}_2 = \text{CH} \cdot \text{Cl}$) mit einem Chloratom verglichen; außerdem wurden einige Versuche mit Stickoxydul durchgeführt.

Methodik.

Die Versuche wurden am Herz-Lungen-Präparat von Katzen nach *Starling* angestellt, das bereits *Schram*, *Storm van Leeuwen* und *van der Mader* für ähnliche Untersuchungen benutzten. Als Maß für den Suffizienzgrad des Herzens wurde der Druck im rechten Vorhof registriert. Von einer Messung des geförderten Minntenvolumens wurde abgesehen, da die Höhe des Vorhofdruckes bei konstant gehaltenem Einflußdruck, das ist mit anderen Worten die Druckdifferenz zwischen Einflußdruck und Vorhofsdruck, mit großer Annäherung das in die Peripherie geförderte Minutenvolumen zu bestimmen gestattet, das ja — ein gutes Präparat vorausgesetzt — gleich der einfließenden Blutmenge sein muß. Durch einen Hahn in der venösen Zuflußleitung wurde das Einflußvolumen so eingestellt, daß es bei dem in allen Versuchen gleichmäßig eingehaltenen Einflußdruck von 190 mm und einem Vorhofsdruck von 40 mm (also einer Druckdifferenz von 150 mm) 300 ccm pro Minute betrug, eine Größe, die sich in der Nähe des normalen Minntenvolumens mittelschwerer Katzen hält. Bei der gleichen Hahnstellung wurde das Einflußvolumen bei verschiedenen Vorhofsdrucken (i. e. Druckdifferenzen) empirisch bestimmt, so daß also aus den Vorhofsdrucken auch annähernd das Minutenvolumen abgelesen werden konnte, wofür die beifolgende Tabelle 1 ein Beispiel gibt.

Tabelle 1.

Einflußdruck (mm)	190	190	190	190	190	190	190	190
Vorhofsdruck (mm)	40	60	80	100	120	140	160	180
Druckdifferenz (mm)	150	130	110	90	70	50	30	10
Einfluß-(Minuten)	300	275	250	230	190	150	110	50
Volumen (ccm)								

Um die Gesamtleistung des Herzens zu messen, wäre dazu natürlich noch das Coronarvolumen zu addieren.

Das Narkotieum-Luft-Gemisch wurde bei den flüssigen Narkotica durch Verdampfen der berechneten Menge in einer abgemessenen Luftmenge hergestellt und in einem Gummisack aufgefangen, der an den Ansaugstutzen der die Lungen beatmenden Starlingpumpe angeschlossen wurde. Bei den gasförmigen Narkotica Vinylchlorid und Stickoxydul wurde eine auf dem Prinzip des Staudrucks beruhende Meßvorrichtung benutzt, die direkt den Prozentgehalt abzulesen gestattet.

Die Zusammensetzung wurde, da trotz der kurzen Dauer der Versuche doch eine Adsorption bzw. Lösung der Narkotica in den Wänden des Gummisackes stattfand, auch noch analytisch kontrolliert. Hierzu wurde die Apparatur nach *Haldane* benutzt und die Abnahme des Gasvolumens nach Absorption des Narkotieums bestimmt. Als Absorptionsmittel wurde Paraffinöl benutzt, das die lipoidlöslichen Narkotica schnell und quantitativ absorbiert, ohne dabei selbst eine meßbare Dampftension zu besitzen und ohne die Wasserdampftension des feucht gemessenen Gasgemisches zu verändern. Die so erzielbare Genauigkeit reichte für den vorliegenden Zweck vollkommen aus.

Für das bisher experimentell nicht bearbeitete Vinylchlorid wurde noch in einer Anzahl von Blutanalysen der Gehalt des Blutes an Vinylchlorid bestimmt. Wegen der leichten Flüchtigkeit und der umständlichen Durchführung konnte hierzu die von *Nicloux* für das Chloroform angegebene Methode nicht benutzt werden. Es wurde daher folgende Methode ausgearbeitet: Das Blut (5–10 ccm) wird im *Van Slykeschen* Apparat entgast, nach 3 Minuten langem Schütteln das Vakuum mit Sauerstoff

aufgefüllt und das Gasgemisch in einem *Pregl*sehen Perlenrohr über Platinkontakten verbrannt; die dabei entstehende HCl wurde in Soda-Bisulfit nach *Pregl* aufgefangen und das Chlor nach *Volhard* titriert. (Genauere Resultate wird man natürlich bei der gravimetrischen Bestimmung nach *Pregl* erhalten.) Dreimaliges Entgasen genügt, um das flüchtige Halogen quant. dem Blut zu entziehen. Die stets durchgeführten Doppelbestimmungen zeigten eine befriedigende Übereinstimmung.

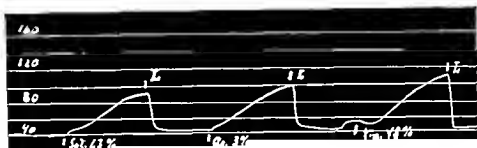
Auf eine nähere Schilderung und Kritik der Methoden kann an dieser Stelle nicht eingegangen werden.

Um Vergleichswerte für die Herzwirkung der einzelnen *Narkotica* zu erhalten, wurde so vorgegangen, daß am selben Herz-Lungen-Präparat in kurz aufeinanderfolgenden Versuchen die Konzentrationen für zwei *Narkotica* aufgesucht wurden, die die gleiche relative Insuffizienz, gemessen am Vorhofsdruck, machten, und außerdem die Grenzkonzentrationen, bei denen absolute Insuffizienz, d. h. Ansteigen des Vorhofsdruckes bis zur Höhe des Einflußdruckes und steiles Absinken des Aortendruckes eintrat.

Ein Beispiel für einen Vergleich bei zu relativer Insuffizienz führenden Konzentrationen gibt *Kurve 1*: danach würden 1,3 Vol.-% Solaesthin, 3 Vol.-% Äther und 18 Vol.-% Vinylchlorid eine relative Insuffizienz von annähernd gleicher Größe machen.

Kurve 2 zeigt, daß 0,8 Vol.-% Chloroform und 12 % Äther bereits eine vollkommene Insuffizienz mit Ansteigen des Vorhofsdruckes auf die Höhe des Einflußdruckes und rapidem Absinken des Aortendruckes verursachten, während 2,5 Vol.-% Solaesthin und 20 Vol.-% Vinylchlorid nur eine mehr oder weniger starke relative Insuffizienz zur Folge haben.

Aus *Kurve 3* würde sich ergeben, daß die herzscheidenden Wirkungen von 3,5 Vol.-% Solaesthin und 0,6 Vol.-% Chloroform annähernd gleich sind, während 0,4 Vol.-% Chloroform stärker schädigt als 2 Vol.-% Solaesthin, dem in der Herzwirkung etwa 20 % Vinylchlorid entsprechen.

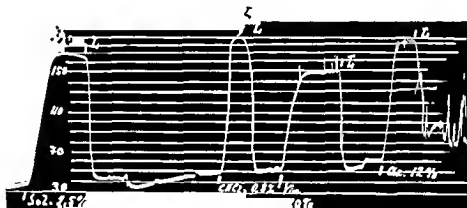


10'

Kurve 1

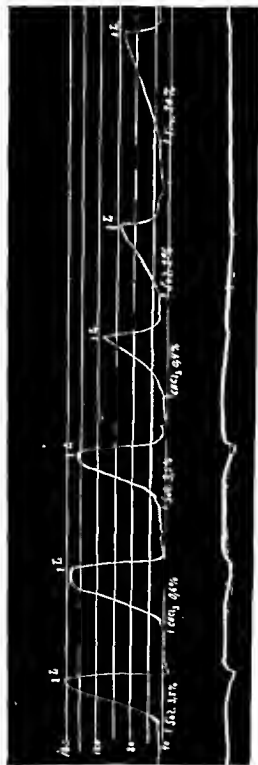
Katze 3,6 kg. Oben, wie in den folgenden Kurven, Vorhofsdruck in mm Wasser, unten Aortendruck. Venöser Einflußdruck in allen Kurven 190 mm. L = Umschalten auf Luft. Vergleich der Wirkung von Solaesthin (Sol.), Aether (Ae.) und Vinylchlorid (Vin.) bei Dosen, die nur relative Insuffizienz machen.

	Konzentration	Drucksteigerung im Vorhof	Abnahme des Min.-Vol. (berechnet)
Solaesthin	1,3 Vol. %	52 mm	20 %
Aether	3,0 Vol. %	60 mm	23 %
Vinylchlorid	18,0 Vol. %	70 mm	30 %



Kurve 2

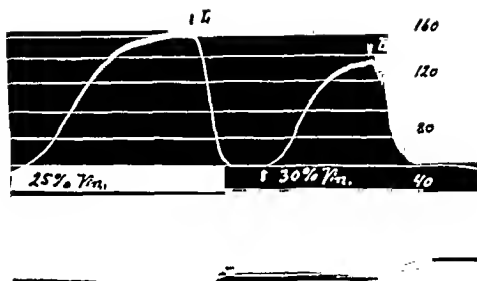
Katze 3,4 kg. Absolute Insuffizienz nach Aether; Ansteigen des Vorhofsdrucke (190 mm) und rascher Blutdruckabfall Vinylchlorid machen an diesem, wie auch in den Zwischenpausen anzusteige Herzen nur eine relative Insuffizienz.



Kurve 3

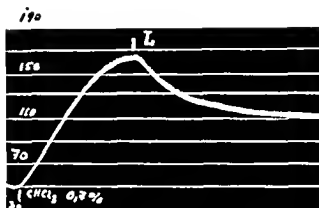
Katze 3,3 kg.

Konzentration	Drucksteigerung im Vorhof	Abnahme des Min.-Vol. (berechnet)
Solaesthin	122 mm	63 %
Chloroform	118 mm	60 %
Solaesthin	107 mm	55 %
Chloroform	75 mm	34 %
Solaesthin	48 mm	20 %
Vinylchlorid	46 mm	19 %



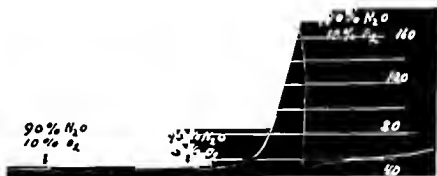
Kurve 4

Katze 3,3 kg. Relative Insuffizienz nach 25 Vol. % und 30 Vol. % Vinylchlorid. Der Vorhofsdruck bleibt unter dem Einflußdruck (190 mm) und der Aortendruck sinkt nicht merkbar. Das Min.-Vol. nimmt maximal um 60 % ab.



Kurve 5

0,7 Vol. % Chloroform bewirkt Steigerung des Vorhofsdruckes von 40 mm auf 105 mm (Abnahme des Min.-Vol. um 70 %), der nach Umschalten auf Luft nur langsam auf 110 mm zurückgeht. (Bleibende Abnahme des Min.-Vol. um 30 %.)



Kurve 6

Katze 3,4 kg. 90 Vol. % Stickoxydul lassen die Herzleistung vollkommen unverändert; bei 95 % N_2O tritt erst nach längerer Zeit eine plötzlich einsetzende Insuffizienz als Folge einer Anoxaemie auf. Umschalten auf 90 % N_2O stellt sofort wieder volle Herzleistung her.

Mit Vinylchlorid konnte eine absolute Insuffizienz selbst mit 25—30 Vol.-% nicht erzielt werden (*Kurve 4*).

Die Steilheit des Abfalls der Vorhofskurve nach Umschalten auf Luft gibt ein gutes Maß für die Schnelligkeit der Ausscheidung der Narkotica, vorausgesetzt, daß das Herz nicht eine Dauerschädigung davongetragen hat; in diesem Falle kehrt der Vorhofsdruck nicht zum Ausgangswert zurück, sondern bleibt dauernd erhöht, wie das z. B. an *Kurve 5* nach Chloroform zu erkennen ist. Noch besser läßt sich die Ausscheidungsgeschwindigkeit, die außer von anderen Eigenschaften, wie z. B. Verteilungskoeffizient, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann, hauptsächlich von der Dampftension des Narkotieums abhängt, an der Konzentration des Narkotieums im Blut zu verschiedenen Zeiten nach Aussetzen der Narkose erkennen, wie sie von *Nicloux* für Äther (Kp. 35°) und Chloroform (Kp. 61°) und von mir für Vinylchlorid (Kp. -18°) bestimmt wurde.

Tabelle 2.

Zeit nach Aus- setzen der Narkose	0 Min.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.
Äther	100%	50%	—	36%	—	13%
Chloroform .	100%	47%	—	38%	34%	25%
Vinylchlorid .	100%	30%	18%	—	—	—

Der Narkotieumgehalt des Blutes unmittelbar nach Aussetzen der Narkose wurde dabei gleich 100% gesetzt. Es zeigt sich, daß vom Vinylchlorid nach 10 Minuten bereits 82% wieder ausgeschieden sind, während vom Äther erst nach 60 Minuten und vom Chloroform noch viel später eine gleiche Ausscheidungsgröße erreicht wird. Abgesehen von der Reparation etwaiger akuter Narkoseschäden wird dieses Verhalten auch für eventuelle Spätschädigungen von großer Bedeutung sein.

Die hier gebrachten Kurven sind natürlich nur Beispiele. Da sich der Insuffizienzgrad des Herzens beim Starlingpräparat spontan im Laufe des Versuches ändert und andererseits auch

die absolute Empfindlichkeit der Herzen bei verschiedenen Tieren nicht gleich ist, können einigermaßen richtunggebende Resultate über die herzhemmende Wirkung verschiedener Narkotica und ihr Verhältnis zueinander nur aus Mittelwerten einer größeren Anzahl von Versuchen erschlossen werden. Die schlüssigsten Resultate ergeben sich aus Versuchen, in denen die Kurve des zu vergleichenden Narkoticums zwischen zwei Kurven des Bezugsnarkoticums eingeschlossen wird, wie dies z. B. an *Kurve 3* für Solaesthin und Chloroform der Fall ist.

Die Ergebnisse sind der Kürze und Übersichtlichkeit halber in folgender *Tabelle 3* zusammengefaßt.

Tabelle 3.

	Narkot. Konzentr.	rel. narkot. Wirksam- keit	Blutkonz. bei Narkose	Konsen- trat. bei absol. Herz- lähm.	relat. Toxizität am Herzen	Blutkonz. bei Herz- stillstand	Blutkonz. bei Atmungs- stillstand	N/T.
Äther	¹⁾ 3,0 Vol. %	100	²⁾ 130—140 mg %	9—12 Vol. %	100	³⁾ 250—300 mg %	³⁾ 160—170 mg %	2,3—3
Vinylchlorid	10—13 Vol. %	30—39	15—17 mg %	> 30 Vol. %	³⁾ < 30—40 (17)	< 40 mg %	27—30 mg %	³⁾ > 3,3—4,3 (4,6—6,0)
Solaesthin	³⁾ 1,0—1,45 Vol. %	270—390	—	3,5 Vol. %	200—340	—	—	2,4—4,3
Chloroform	¹⁾ 1,2 Vol. %	325	⁴⁾ 30—50 mg %	0,6—1,3 Vol. %	900—1500	⁵⁾ 100 mg %	⁵⁾ 60—70 mg %	0,5—1,0

¹⁾ Bert, zit. nach Winterstein „Die Narkose“ 2. Aufl., Berlin 1926, S. 38—39.

²⁾ Flury und Zernik „Schädliche Gase“ Berlin 1931, S. 311.

³⁾ Schram, Storm van Leeuwen und van der Made, Phil. Arch. 165, 123

⁴⁾ Storm van Leeuwen, Phil. Arch. 154, 337

⁵⁾ aus Kurve 1 würde sich gegenüber Äther eine rel. Toxizität von 17 und ein Verhältnis N/T von 4,6—6,0 berechnen.

Aus der Tabelle sind folgende bemerkenswerte Schlüsse zu ziehen: Während für Äther und Solaesthin die relative Toxizität (Stab 2) für das Herz etwa im selben Verhältnis steht wie die narkotische Wirksamkeit (Stab 5), ist beim Chloroform die herzhemmende Wirkung etwa 3—5mal größer als seiner nar-

totischen Wirksamkeit entsprechen würde. Während also beim Solaesthin wie beim Äther die Verminderung der Herztätigkeit nur ein Teilsymptom der allgemeinen Zellnarkose ist, besitzt das Chloroform eine darüber hinausgehende spezifisch herzscheidende Wirkung. Dasselbe zeigt sich noch deutlicher, wenn man die narkotische Konzentration zu der für das Herz toxischen Konzentration in Beziehung setzt (Stah 8). Hiernach besteht für Äther und Solaesthin etwa dasselbe Verhältnis, während beim Chloroform bereits unternarkotische Dosen für das Herz toxisch sein können.

Das Vinylchlorid nimmt insofern eine Ausnahmestellung ein, als bei ihm bis zu der durch die angewandte Apparatur begrenzten Konzentration von 30 Vol.-% eine absolute Herzinsuffizienz überhaupt nicht erreicht werden konnte. Doch ergibt sich aus den Versuchen die überraschende Tatsache, daß bei ihm das Verhältnis zwischen narkotischer und herztotischer Konzentration noch günstiger liegt als beim Äther. Wenn man zum Vergleich der herzscheidenden Wirkung von Äther und Vinylchlorid die Konzentrationen heranzieht, die eine ungefähr gleiche relative Insuffizienz machen, so würde sich aus Kurve 1 ergeben, daß 18 Vol.-% Vinylchlorid etwa 3 Vol.-% Äther äquivalent sind, oder mit anderen Worten, daß bei 3mal geringerer narkotischer Wirksamkeit (*Tabelle 3*) das Vinylchlorid eine 6mal geringere Toxizität am Herzen besitzt.

Dieser Umstand, sowie seine hohe Dampftension, die es in die Klasse der Gasnarkotica einreicht und seine überaus rasche Ausscheidung bedingt, würden es trotz seines Chlorgehalts als gutes Inhalationsnarkotikum erscheinen lassen, besonders wenn es in Kombination mit Stickoxydul anstelle von Äther nur zu kurzdauernder Erzielung von Spitzenleistungen der Narkose verwendet wird. Zahlreiche Tieroperationen, die in einer solchen kombinierten Stickoxydul-Sauerstoff-Vinylchlorid-Narkose durchgeführt wurden, verliefen denn auch außerordentlich befriedigend. Obwohl sich darunter auch sehr schwere Eingriffe,

wie Pankreas- und Nebennierenexstirpationen, befanden und die Narkose oft stundenlang andauerte, war das rasche Erwachen der Tiere aus der Narkose und ihr guter Zustand in den Tagen nach der Operation sehr eindrucksvoll.

Bemerkenswert ist, daß beim Vinylchlorid die Konzentration im Blut bei Narkose wesentlich geringer ist (15 bis 17 mg-%) als beim Chloroform (30—50 mg-%), obwohl in der Einatemungsluft zur Erzielung der Narkose beim Vinylchlorid etwa die zehnfache Konzentration nötig ist wie beim Chloroform.

Eine Erklärung für diese paradox erscheinende Tatsache kann vorläufig noch nicht gegeben werden. Die Ursache kann nicht in dem Verteilungsquotienten zwischen Plasma und Blutkörperchen liegen, da dieser für Vinylchlorid und Chloroform ungefähr gleich ist: *Nicloux* fand beim Chloroform 88 % in den Blutkörperchen und 12 % im Plasma, während eigene Untersuchungen für das Vinylchlorid 85 % in den Blutkörperchen und 15 % im Plasma für Katzenblut ergaben.

Zur endgültigen Aufklärung dieser Erscheinung sind hier noch eingehende Untersuchungen besonders über den lipoiden Verteilungskoeffizienten des Vinylchlorids sowie seine Verteilung und seine Konzentration in den Körperzellen, hauptsächlich des Zentralnervensystems, nötig.

Zum Schluß sei noch ein Beispiel eines Versuchs mit Stickoxydul angeführt. Aus *Kurve 6* ersieht man, daß selbst bei 90 % Stickoxydul und 10 % Sauerstoff keinerlei Verschlechterung der Herzleistung zu erkennen ist; erst bei 95 % Stickoxydul und 5 % Sauerstoff tritt fast absolute Herzinsuffizienz ein. Aus dem Verlauf der Kurve kann man aber deutlich erkennen, daß die Insuffizienz keine Folge der hohen Stickoxydul-Konzentration, sondern vielmehr der geringen Sauerstoffversorgung, also eine Erstickungserscheinung, ist: Die Kurve verläuft zunächst nahezu parallel mit der Abszissenachse, um dann ganz plötzlich steil anzusteigen; dies ist der Zeitpunkt, wo der in dem zur Speisung des Präparates dienenden Blut aufgespeicherte

Sauerstoff verbraucht ist. Bei Beobachtung des Versuchs kann man das auch an dem vollkommenen Dunkelwerden des Blutes erkennen. Zurückgehen auf eine Konzentration von 90 % Stickoxydul und 10 % Sauerstoff hebt denn auch die Insuffizienz wieder vollkommen auf.

Auf eine ausführliche Diskussion der Resultate und die einschlägige Literatur kann im Rahmen dieser kurzen Mitteilung nicht eingegangen werden; es sei diesbezüglich auf die Monographien von *Nicloux* „*Les anesthésiques généraux*“ (Paris 1908) und von *Winterstein* „*Die Narkose*“ (Berlin 1926) sowie die entsprechenden Zusammenfassungen in „*Die experimentelle Pharmakologie*“ von *H. H. Meyer, Gottlieb* und *E. P. Pick* (8. Auflage 1933) verwiesen.

Kurz zusammengefaßt ergibt sich aus den Versuchen, bezogen auf die Narkoticumkonzentration in der Einatemungsluft, folgendes: Beim Äther und Solaesthin stehen die herzscheidenden Konzentrationen im gleichen Verhältnis wie ihre narkotischen Wirkungsstärken. Beim Vinylchlorid ist das Verhältnis deutlich zu dessen Gunsten verschoben. Ganz anders liegen die Verhältnisse beim Chloroform: Hier ist die herzscheidende Wirkung etwa 3—5mal größer, als seiner narkotischen Wirksamkeit entsprechen würde. Während beim Äther, Solaesthin und noch mehr beim Vinylchlorid die herzscheidenden weit über den narkotischen Konzentrationen liegen, treten beim Chloroform schwere Herzscheidungen bereits bei Dosierungen auf, die gleich der narkotischen Konzentration sind oder sogar noch darunter liegen. Dem Chloroform kommt also eine spezifisch herzscheidende Wirkung zu, während dies bei den ebenfalls chlorhaltigen Narkotica Solaesthin und Vinylchlorid nicht der Fall ist. Für die Herzwirkung ist also nicht der Chlorgehalt an sich, sondern seine Bindungsart bzw. die Möglichkeit der Bildung toxischer Umwandlungsprodukte maßgebend. Dasselbe dürfte wahrscheinlich auch für die allgemein zellscheidenden Eigenschaften gelten, die für die Spätfolgen maßgebend sind.

Zur Begründung der Kombinationstherapie Digitalis-Coffein

PRIV.-DOZ. DR. H. WEESE und DR. CHR. WIEGAND
Aus dem Pharmakologischen Institut der I. O. Farbenindustrie AG,
Werk Elberfeld

Die Kliniker berichten immer wieder über besondere Vorteile, wenn sie Digitaliskörper, insbesondere Strophanthin, mit Coffein kombinieren. Schen wir von der Diurescförderung des Coffeins ab und betrachten wir nur die Wirkung dieser Kombination auf das insuffiziente Herz, so muß zwischen Berichten über eine bessere Wirksamkeit und Angaben über eine bessere Verträglichkeit unterschieden werden. Unter besserer Wirksamkeit ist eine vermehrte Zunahme des Minutenvolumens durch die Kombinationstherapie gegenüber den einfachen Digitalisbehandlungen zu verstehen, unter besserer Verträglichkeit die Möglichkeit, höhere Dosen ohne Nebenwirkungen auf das Herz-Nerven-System, also ohne interkurrente Extrasystolen oder Blockerscheinungen, zu verabfolgen.

Exakte klinische Angaben über eine bessere Wirksamkeit mit der Kombination Digitalis-Coffein sind meines Wissens nicht erbracht worden und dürften wegen der Schwierigkeit, die erforderlichen Vergleichsversuche bei stets demselben Ausgangszustand von Herzinsuffizienz anzusetzen, auch sehr schwer durchführbar sein.

Leichter läßt sich am Tier wie am Patienten eine Zunahme der Verträglichkeit feststellen. Das Verträglichkeitsproblem ist bereits tierexperimentell angegangen worden: *Preobraschensky*¹⁾ verabfolgte vor oder während der Strophanthininfusion den Hatcher-Katzen Coffein und konnte dadurch eine Erhöhung der tödlichen Strophanthindosis von bestenfalls 25 % erzielen. Zu ähnlichen Ergebnissen ist *Pohl*²⁾ am Kaninchen

¹⁾ Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. Bd. 71, S. 70 (1930).

²⁾ Therapeut. Monatsh. 23 (1909).

gekommen. Auch die Resistenz des isolierten Herzens wächst nach Vorbehandlung mit Coffein, wie *Bischoff*¹⁾ in seinen Froschversuchen zeigen konnte. *Kohn*²⁾ findet in seinen noch unveröffentlichten Experimenten über die Veränderung der Digitalisgiftigkeit nach Vordosen von mindestens 0,1 g Coffein zum Herz-Lungen-Präparat (Katze) stets eine Abnahme der Strophanthinverträglichkeit. Entscheidend dürften die neuesten Ergebnisse von *Lendle*³⁾ sein, der an der Hatcher-Katze ganz eindeutig nachweisen konnte, daß die Strophanthinverträglichkeit von der vorher verabfolgten Coffeindosis abhängt: Nach großen Vordosen von Coffein (0,08—0,2 g pro kg Tier) wird die Strophanthinverträglichkeit verringert, da sich zu der Glykosideigenwirkung die toxischen Eigenschaften höherer Coffeindosen hinzufügen, während nach kleinen Coffeindosen von 0,02—0,03 g pro kg Coffeinum Natrium-benzoicum die Strophanthinverträglichkeit erheblich erhöht wird.

Voraussetzung für eine Erklärung der bisherigen Ergebnisse war die Feststellung, ob nicht außerhalb des Herzens gelegene Wirkungen des Coffeins die Glykosidverträglichkeit beeinflussen. *Kohn* und *Costopanagiotis*⁴⁾ beziehen einen wesentlichen Teil des Kombinationseffektes auf die Erregung des Vasomotorenzentrums durch das Coffein, da sie am dekapitierten Tier stets eine Verträglichkeitsverringering erhalten. Sie weisen aber dieser zentralen Wirkung nur den Platz einer Teilwirkung zu. Da die bisherigen Untersuchungen am isolierten Herzen infolge der außerordentlich verschiedenen Dosierung des Coffeins zu den widersprechendsten Ergebnissen führten, suchten wir diese Beeinflussung des Herzens zu klären, indem wir am Herz-Lungen-Präparat an der Katze in derselben Weise arbeiteten, wie sie von *Weese*⁵⁾ bereits beschrieben worden ist.

¹⁾ Klin. Wochenschr. 1930, S. 1991.

²⁾ erscheint demnächst.

³⁾ Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. 169, S. 587 (1933).

⁴⁾ Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. 171, S. 151 (1933).

⁵⁾ Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. 135, H. 3/4, S. 228 (1928).

Zur Begründung der Kombinationstherapie Digitalis-Coffein

PRIV.-DOZ. DR. H. WEESE und DR. CHR. WIEGAND
Aus dem Pharmakologischen Institut der I. O. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Die Kliniker berichten immer wieder über besondere Vorteile, wenn sie Digitaliskörper, insbesondere Strophantin, mit Coffein kombinieren. Sehen wir von der Diureseförderung des Coffeins ab und betrachten wir nur die Wirkung dieser Kombination auf das insuffiziente Herz, so muß zwischen Berichten über eine bessere Wirksamkeit und Angaben über eine bessere Verträglichkeit unterbieden werden. Unter besserer Wirksamkeit ist eine vermehrte Zunahme des Minutenvolumens durch die Kombinationstherapie gegenüber den einfachen Digitalisbehandlungen zu verstehen, unter besserer Verträglichkeit die Möglichkeit, höhere Dosen ohne Nebenwirkungen auf das Herz-Nerven-System, also ohne interkurrente Extrasystolen oder Blockererscheinungen, zu verabfolgen.

Exakte klinische Angaben über eine bessere Wirksamkeit mit der Kombination Digitalis-Coffein sind meines Wissens nicht erbracht worden und dürften wegen der Schwierigkeit, die erforderlichen Vergleichsversuche bei stets demselben Ausgangszustand von Herzinsuffizienz anzusetzen, auch sehr schwer durchführbar sein.

Leichter läßt sich am Tier wie am Patienten eine Zunahme der Verträglichkeit feststellen. Das Verträglichkeitsproblem ist bereits tierexperimentell angegangen worden: *Preobraschensky*¹⁾ verabfolgte vor oder während der Strophantinfusion den Hatcher-Katzen Coffein und konnte dadurch eine Erhöhung der tödlichen Strophanthindosis von bestenfalls 25 % erzielen. Zu ähnlichen Ergebnissen ist *Pohl*²⁾ am Kaninchen

¹⁾ Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. Bd. 71, S. 70 (1930).

²⁾ Therapeut. Monatsh. 23 (1909).

schon die Zugabe von $\frac{1}{100}$ mg Strophanthin sofort tödlich (D.l.m. 0,00085 mg). Unsere Ergebnisse am isolierten Herzen gehen also mit den Befunden von *Lendle*, *Kohn* und *Costopanagiotis* am ganzen Tier parallel. Auch der Ablauf der ganzen Vergiftung unterscheidet sich, wenn Coffein vorgegeben wurde, gegenüber der alleinigen Strophanthinvergiftung. Bei letzterer setzt die Verringerung des Minutenvolumens, also die Abnahme der Arbeitsleistung, nach spätestens zwei Dritteln der D.l.m. ein. Dieser Rückgang der Arbeitsleistung ist weniger die Folge eines veränderten Herztonus, als vorwiegend der zunehmenden Irregularität der Herztätigkeit. Bei der Kombinationsvergiftung hält nun der regelmäßige Herzrhythmus viel länger an. Irregularitäten treten erst auf, wenn 80—90 %, oft sogar 100 % der D.l.m. Strophanthin verabfolgt sind. Alsdann setzt fast schlagartig eine schwere Irregularität ein, die dann viel rascher als nach Strophanthin allein zum Herztode führt. In der Kombinationstherapie mit schützenden (kleinen) Coffeindosen ist also die toxische Phase der Digitalisvergiftung zugunsten der therapeutischen verkürzt, d. h. die bekannten Hemmnngen des Reizbildungs- und Reizleitungssystems durch Digitalis sind verringert.

Dieser Verlauf unserer Versuche weist zwangsläufig auf die Gewebe hin, in denen sich der Antagonismus Coffein—Strophanthin abspielen muß: Das Reizleitungs- und Reizbildungssystem des Herzens. Einen Einblick in das Wesen dieses Antagonismus erwarteten wir im Verhalten des Stoffwechsels dieser Gewebe während der Vergiftung zu finden.

Die verbesserte *Warburgsche* Methode war für derartige Stoffwechseluntersuchungen die gegebene. Eine getrennte Untersuchung des Herz-Nerven-Systems und des Herzmuskels schien uns erforderlichlich.

Leider mußten wir von der Untersuchung der Herzmuskulatur selbst aus technischen Gründen Abstand nehmen, da die Herzmuskulatur in normaler Ringerlösung (ohne Phosphat) sich sehr schnell zusammenrollt unter Abgabe ihres eigenen Phosphates, wodurch die Atmung geschädigt wird. Andererseits ist in normalem, phosphathaltigem Ringer infolge Fehlens des

In besagter Arbeit und in vielen späteren, nicht veröffentlichten Versuchen im Elberfelder pharmakologischen Laboratorium fand Weese am unbehandelten Katzenherzen für g-Strophanthin eine D.l.m. von 0,002—0,0025 mg pro g Herz. Schwarz und Herzog¹⁾ bestätigten diese Befunde, ebenso Kohn²⁾ (0,00216 mg Strophanthin pro g Herz). Lendle³⁾ findet die Werte etwas höher (0,0024—0,003 mg Strophanthin pro g Herz). Die D.l.m. für Coffein beträgt am Herz-Lungen-Präparat 20,6 mg Coffein pro g Katzenherz.

In den nachfolgenden Kombinationsversuchen wurde im Abstand von 5 Minuten das Coffein entweder in einzelnen Vordosen oder abwechselnd mit Strophanthin so langsam zum Herz-Lungen-Präparat hinzugegeben, daß keine Überflutung des Herzens möglich war.

Tabelle 1.

Ver- suchs- Nr.	Coffein mg	Appli- kations- folge	g-Stro- phanthin	Dosis Coffein mg pro g Herz	D.l.m. g-Strophanthin mg pro g Herz
1	3 × 0,5	abwechselnd	3 × 0,01	0,10	0,002
2	4 × 0,5	„	4 × 0,01	0,177	0,0036
3	4 × 1,0	„	3 × 0,01	0,421	0,00315
4	4 × 1,0	„	4 × 0,01	0,50	0,004
5	6 × 1,0	„	5 × 0,01	0,713	0,0060
6	2 × 5,0	Vordosis	5 × 0,01	0,832	0,0044
7	6 × 10,0	„	1 × 0,01	5,00	0,00085

Herz-Lungen-Präparat an der Katze: 120—150 ccm verdünntes Blut als Spülflüssigkeit. Temperatur 37°. Arterieller Widerstand 100 mm Hg. Venöser Druck 5—10 ccm Wasser.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß unter Zugabe von 2,0 mg Coffein zum Herz-Lungen-Präparat die Strophanthinverträglichkeit (D.l.m.) von normalerweise 0,002—0,0025 mg auf 0,0036 mg pro g Herz steigt. Sie nimmt mit steigender Coffeindosis zu. Nach einer Vordosis von 60 mg Coffein wirkt jedoch

¹⁾ Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. 151, S. 12 (1930).

²⁾ erscheint demnächst.

³⁾ Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. 169, S. 587 (1933).

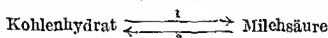
Die mit Coffein behandelten Schnitte zeigen zwar durchschnittlich etwas höhere Werte, doch sind die Ausschläge zu gering, um hindende Schlüsse zuzulassen. An der Leherzelle ist also kein deutlicher Antagonismus bezüglich der Stoffwechselwirkung zwischen Coffein und Strophanthin nachzuweisen.

2. Versuche an der Hirnrinde des Meerschweinchens.

Tabelle 4. Strophanthin (Hirnrinde, Meerschweinchen).

Ohne Strophanthin			Zugewachsene Menge	Mit Strophanthin			Änderungen in %	
Q _{O₂}	Q _{CO₂}	RQ		Q _{O₂}	Q _{CO₂}	RQ	Q _{O₂}	Q _{CO₂}
- 6,7	+ 6,7	- 1,0	0,01‰	- 7,1	+ 14,1	- 1,99	+ 6%	+ 110%
- 7,8	+ 8,0	- 1,03	0,1‰	- 4,9	+ 12,5	- 2,55	- 37%	+ 56%
- 8,8	+ 9,2	- 1,04	1,0‰	- 6,2	+ 15,8	- 2,55	- 30%	+ 73%

An der Hirnrinde des Meerschweinchens vermindert Strophanthin in allen angewandten Konzentrationen im gleichen Sinne wie an der Mauseleber die Atmung. Im Gegensatz zur Leber tritt jedoch gleichzeitig eine überschüssige aërohe Säurebildung ein, so daß der respiratorische Quotient auf 2,5—2,6 ansteigt (vgl. Tabelle 4). Diese vermehrte aërohe Säurebildung ist bedingt durch eine Milchsäureüberflutung, wie sie ähnlich bei der Einwirkung von Narkotica auf die Hirnrindenschnitte eintritt¹⁾. Der Milchsäureüberschuß ist nach Warburg²⁾ dadurch bedingt, daß in dem Kreislauf



der Vorgang 2, die Rückverwandlung der Milchsäure in Kohlenhydrat, durch die Atmung als Energiequelle bedingt wird. Wird die Atmung vermindert, so wird der Reaktionsvorgang 2 naturgemäß zwangsläufig mit verringert.

Tabelle 5 Coffein (Hirnrinde, Meerschweinchen).

Ohne Coffein			Zugewachsene Menge	Mit Coffein			Änderungen in %	
Q _{O₂}	Q _{CO₂}	RQ		Q _{O₂}	Q _{CO₂}	RQ	Q _{O₂}	Q _{CO₂}
- 7,7	+ 7,4	- 0,96	0,1‰	- 8,0	+ 8,7	- 1,09	+ 4%	+ 18%
- 8,2	+ 8,6	- 1,05	1,0‰	- 11,0	+ 13,3	- 1,21	+ 34%	+ 55%

¹⁾ Löbel, Biochem. Zeitschr., Bd. 161, S. 225 (1925).

²⁾ Warburg, Stoffwechsel der Tumoren, S. 189 (Verlag J. Springer, Berlin 1929)

Bicarbonates eine Messung der Glykolyse unmöglich. Wir haben deshalb als Vertreter von Organen mit ausgesprochen oxydativem Stoffwechsel die Leber gewählt. Anstelle des Herz-Nervon-Systems, welches nicht isoliert untersucht werden konnte, mußten wir Hirnrinde von Meerschweinchen heranziehen, die einen oxydativen und anaërohen Stoffwechsel zu unterhalten vermag.

1. Versuchs an der Mäuselober.

Gibt man zu Leberschnitten steigende Mengen Strophanthin, so wird die Atmung, wie auch schon *Frühau*¹⁾ fand, gehemmt. Gleichzeitig mit der Atmungshemmung sinkt der respiratorische Quotient ab.

Tabelle 2²⁾. Strophanthin (Mäuseleber).

Ohne Strophanthin			Zugesetzte Menge	Mit Strophanthin			Änderungen in %	
Q _{O₂}	Q _{CO₂}	RQ		Q _{O₂}	Q _{CO₂}	RQ	Q _{O₂}	Q _{CO₂}
— 16,1	+ 10,8	— 1,04	0,1‰	— 13,3	+ 12,5	— 0,94	— 17%	— 26%
— 16,9	+ 18,3	— 1,08	0,1‰	— 13,7	+ 13,8	— 1,01	— 19%	— 25%
— 17,5	+ 18,5	— 1,06	1,0‰	— 9,4	+ 7,2	— 0,77	— 46%	— 01%
— 18,8	+ 18,7	— 1,0	1,0‰	— 12,7	+ 10,8	— 0,85	— 32%	— 42%

An der Leber geht unter Strophanthin mit einer Verminderung der Atmung auch die Menge der aeroben Kohlensäure zurück, während im Gegensatz hierzu beispielsweise bei Beginn der Blausäurevergiftung der Atmung die aerob gebildete Kohlensäuremenge ansteigt³⁾.

Das Coffein zeigt, wie aus Tabelle 3 ersichtlich, keinen ausgesprochenen Einfluß auf das Atmungsferment.

Tabelle 3⁴⁾. Coffein (Mäuseleber).

Ohne Coffein			Zugesetzte Menge	Mit Coffein			Änderungen in %	
Q _{O₂}	Q _{CO₂}	RQ		Q _{O₂}	Q _{CO₂}	RQ	Q _{O₂}	Q _{CO₂}
— 15,5	+ 12,5	— 0,81	0,1‰	— 17,5	+ 14,9	— 0,85	+ 13%	+ 19%
— 17,9	+ 13,5	— 0,75	0,1‰	— 18,9	+ 15,1	— 0,80	+ 6%	+ 12%
— 18,0	+ 19,3	— 1,07	1,0‰	— 20,4	+ 19,4	— 0,95	+ 13%	+ 0%

¹⁾ Dissertation Münster 1932.

²⁾ Alle in den Tabellen angeführten Werte sind Mittelwerte aus je vier Versuchen.

³⁾ *Wiegand*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol., Bd. 163, S. 150 (1932).

⁴⁾ Vgl. Fußnote zur Tabelle 2.

Schon oben wurde erwähnt, daß auch bei aërohem Verhalten der Stoffwechselquotient der Hirnrinde unter Coffein etwas erhöht sei. Das Coffein hat also aërob, und noch stärker ausgeprägt anaërob, einen fördernden Einfluß auf die Glykolyse. Damit ist der vermutete Antagonismus auf den Stoffwechsel des ganglienzellenhaltigen Gewebes erwiesen.

Aus den beiden Stoffwechselversuchsreihen an der Mäuseleber und an der Meerschweinchen-Hirnrinde hat sich also ergeben, daß an der Leber, die als Testorgan für den Herzmuskel herangezogen wurde, Strophanthin die Gewebsatmung und die CO_2 -Produktion hemmt. Coffein wirkt gegensinnig, aber erheblich schwächer. Ein Antagonismus ist hier nur angedeutet. An der Hirnrinde, die als Modell für das ganglienreiche Reizbildungs- und Reizleitungssystem des Herzens gewählt wurde, konnte ein ausgeprägter Antagonismus Coffein—Strophanthin nachgewiesen werden, da Strophanthin die Atmung und die Resynthese von Milchsäure zu Kohlenhydrat hemmt, während Coffein sie steigert. Diese Erstickung der Ganglienzellen unter Strophanthin ist für die längst bekannte Funktionshemmung der nervösen Herzelemente verantwortlich zu machen¹⁾. Coffein seinerseits steigert nun die Atmung der Ganglienzellen und normalisiert damit ihre Funktion wieder. Es verhindert damit die relativ frühzeitigen Digitalisextrasystolen und -blockerscheinungen. In dieser Atmungssteigerung erblicken wir die Ursache, weshalb Coffein die Strophanthinverträglichkeit im richtigen Mischungsverhältnis fördert. Der Kliniker kann darin eine Erklärung für die bessere Strophanthinverträglichkeit der Coffein-Strophanthin-Kombination bei reiner Herzmuskelinsuffizienz finden. Zugleich begründet sie die theoretische Ablehnung dieser Kombinationstherapie bei Herzarhythmien, an denen gerade die Hemmung der übermäßigen Tätigkeit des Reizbildungssystems erforderlich ist.

¹⁾ Nebenbei sei hier daran erinnert, daß einige Digitalisglykoside Lokalanaesthetica sind.

Das Coffein bewirkt im Gegensatz zu Strophanthin an der Hirnrinde eine ausgesprochene Steigerung der Atmung. Der Stoffwechselquotient wird gleichfalls etwas erhöht.

Ein weiterer Stoffwechselantagonismus zwischen Strophanthin und Coffein ließ sich bei der Untersuchung der anaeroben Glykolyse auffinden: Setzt man zu Hirnschnitten, deren anaerobe Glykolyse gemessen werden soll, Strophanthin hinzu, so bemerkt man in Konzentrationen von 0,001‰ noch keinen nennenswerten Einfluß. Aber schon nach 0,01‰ tritt ein sehr starker Abfall der Glykolyse auf.

Tabelle 6¹⁾. Strophanthin (Hirnrinde, Meerschweinchen).

Ohne Strophanthin Q $\frac{N_2}{CO_2}$	Zugesetzte Menge	Mit Strophanthin Q $\frac{N_2}{CO_2}$	Änderungen in % Q $\frac{N_2}{CO_2}$
+ 14,6	0,01‰	+ 6,5	— 56%
+ 13,4	0,01‰	+ 5,9	— 56%
+ 13,7	0,1‰	+ 3,7	— 73%
+ 13,3	0,1‰	+ 4,1	— 70%
+ 11,9	1,0‰	+ 5,2	— 56%
+ 11,1	1,0‰	+ 3,7	— 67%

Dieses Verhalten des Strophanthins ist besonders deswegen bemerkenswert, weil z. B. die Narkotica an der Hirnrinde nur einen sehr schwachen Einfluß auf die anaerobe Glykolyse ausüben²⁾ 3).

Im Gegensatz zu Strophanthin steigert das Coffein die anaerobe Glykolyse:

Tabelle 7⁴⁾. Coffein (Hirnrinde, Meerschweinchen)

Ohne Coffein Q $\frac{N_2}{CO_2}$	Zugesetzte Menge	Mit Coffein Q $\frac{N_2}{CO_2}$	Änderungen in % Q $\frac{N_2}{CO_2}$
+ 9,4	1,0‰	+ 11,3	+ 20%
+ 9,1	1,0‰	+ 11,1	+ 22%
+ 7,5	5,0‰	+ 7,2	+ 4%
+ 10,0	5,0‰	+ 11,6	+ 16%

1) Vgl. Fußnote zur Tabelle 2.

2) Löbel, l. c. S. 225.

3) Wegen der großen Empfindlichkeit der anaeroben Glykolyse der Hirnrinde gegenüber dem Strophanthin könnte das eben geschilderte Verhalten zum Nachweis des Strophanthins dienen.

4) Vgl. Fußnote zur Tabelle 2.

Schon der Umstand, daß man außer der Prüfung der Nebennierenextrakte auf ihre Eignung, nebennierenlose Tiere am Leben zu erhalten, keine anderen verlässlichen Testmethoden kennt, was am besten damit zu vergleichen wäre, als ob sich die Prüfung des Insulins allein auf seine Fähigkeit erstreckte, pankreaslose Tiere vor dem Eingehen zu bewahren, erbellt unsere Unkenntnis von der eigentlichen und primären Funktion der Nebenniere. Daß diese nicht schlechthin mit der Aufgabe, toxische Stoffwechselprodukte abzufangen, betraut ist, eine Verlegenheitsauskunft, die sich auf dem Hormongebiet noch jedesmal als unrichtig erwies, dafür spricht die Möglichkeit der Herstellung wirksamer Extrakte. Sie ist anscheinend ziemlich gleichzeitig mehreren Autoren gelungen, von denen wir *Hartman*¹⁾ und *Swingle*²⁾ mit ihren Mitarbeitern an erste Stelle setzen möchten. Wir wollen auf Unterschiede in den einzelnen veröffentlichten Darstellungsverfahren nicht eingehen, auch die Frage unberührt lassen, ob sie alle zu wirksamen Präparaten führen. Sicher ist dies bei dem Darstellungsverfahren nach *Swingle* der Fall, da danach von uns probeweise hergestellte Extrakte nebennierenlose Hunde am Leben zu erhalten vermochten.

Ein solcher Versuch sei in großen Zügen hier wiedergegeben. Einem Hund wurde am 16. Juni 1933 die rechte, am 26. Juni 1933 die linke Nebenniere entfernt. Daran schloß sich eine zweiwöchige Behandlung mit Nebennierenextrakt, während welcher das Tier, abgesehen von den der Operation unmittelbar folgenden Tagen, normal schien. Zur Prüfung der Vollständigkeit der Exstirpation wurde in der dritten Woche die Verabfolgung des Extraktes ausgesetzt. Im Laufe der nächsten sechs Tage traten deutliche Anzeichen der Insuffizienz auf: hohe Blutreststickstoffwerte, anfangs schlechte, schließlich fehlende

¹⁾ *F.A.Hartman, K.Brownell, W.E.Hartman, G.A.Dean and C.G.MacArthur, Am. Journ. of Phys., 86, 353, 1928.*

²⁾ *W.W.Swingle and J.J.Pfiffner, Am. Journ. of Phys., 96, 153, 164, 1931; J.J.Pfiffner and W.W.Swingle, Am. Journ. of Phys., 96, 180, 1931.*

Neue Probleme der Nebennierenpathologie

DR. R. RIOLER

Aus dem Pharmakologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Hoechst

Der Ausdruck Nebennierenpathologie bedarf einer Rechtfertigung, da man im allgemeinen nur von pathologischen Zuständen oder Vorgängen spricht. Dies hätte aber in bezug auf das vorliegende Thema zur Voraussetzung, daß sich die mit der Funktion der Nebenniere in unmittelbarem Zusammenhang stehenden Vorgänge ohne weiteres angehen ließen. Da diese Vorbedingung bisher nicht erfüllt ist und nur feststeht, daß die Entfernung der Nebennieren mit der Erhaltung des Lebens unvereinbar ist, soll von einer Nebennierenpathologie in dem Sinne gesprochen werden, als hierunter alle Abweichungen von der Norm gemeint sind, welche man bei Erkrankung oder Fehlen des Organs überhaupt beobachtet hat.

Die Schwierigkeit einer Deutung des Funktionsansfalles wird dadurch nur vermehrt, daß die Nebenniere nicht ein Organ von einheitlichem histologischen Aufbau darstellt, sondern zumindest in zwei voneinander verschiedene Teile, einen Rinden- und einen Markanteil, zerfällt. Es sollen hier nicht die in jedem Kompendium der Physiologie enthaltenen Angaben über Unterschiede in der Lebenswichtigkeit der beiden Teile wiederholt werden. Zweifel an mancher bisher gehegten Vorstellung werden aber doch wach, wenn man die Angaben von *Pfiffner*, *Vars*, *Bott* und *Swingle*¹⁾ berücksichtigt, wonach die Darstellung des lebenserhaltenden Prinzips aus der Rinde an Ausbeute nur ein Zehntel der aus der gesamten Nebenniere gewinnbaren Menge beträgt. Ob es sich hier ausschließlich um den Übertritt des in der Rinde gebildeten lebenswichtigen Stoffes in das Mark handeln sollte?

¹⁾ J.J. Pfiffner, H.M. Vars, P.A. Bott and W.W. Swingle, *Proceed. Soc. exper. Biol. a. Med.*, 29, 998, 1931/32.

nehnierenlosen Tier ohne Einfluß. Die Mobilisierung von Kohlenhydrat ist somit unmöglich, in der Leber fehlen zudem Glykogenreserven. Tiere, die an Nebenniereninsuffizienz eingehen, zeigen einige Stunden vor dem Tod Krämpfe nach Art der nach Insulin-Anwendung zu beobachtenden, während dies bei Tieren, die an Blutverlust zugrunde gehen, nicht der Fall ist. Ferner, und dies scheint nach *Brittons* Ansicht am meisten gegen die Auffassung vom Versagen des Kreislaufs als Ursache des letalen Ausgangs zu sprechen, läßt sich zwar das herabgesunkene Blutvolumen der insuffizienten Tiere durch Kochsalzlösung allenfalls unter Gummizusatz wiederherstellen, die Symptome der Insuffizienz werden dadurch aber nicht beseitigt, das Leben nicht verlängert. Dagegen verbessert die Injektion von Glucose den Zustand und dehnt die Überlebenszeit aus. Auch kann Bluteindickung und Abnahme des Blutvolumens nicht die beobachtete Wassermehraufnahme von seiten der Muskulatur und Leber allein erklären; letztere ist deutlich größer, als dem im Kreislauf fehlenden Flüssigkeitsquantum entspricht. Die primäre Störung liegt somit in den Geweben und beruht nicht in einer primären Veränderung der Permeabilität der Gefäßbahn.

Demgegenüber stützt sich die andere Seite (*Swingle, Pfiffner* und Mitarbeiter¹⁾) auf die Beobachtung, daß noch keine pathologischen Abweichungen im Stoffwechsel zu beobachten sind, wenn Bluteindickung und Abnahme des Blutvolumens bereits deutlich werden. Sie seien das erste Zeichen der Insuffizienz und könnten schon 24 Stunden nach Aussetzen der Hormonbehandlung oder Entfernung der Nebennieren in Erscheinung treten. Alle anderen Symptome betrachten sie als Folgerungen des Kreislaufkollapses und verweisen auf die Ähnlichkeit des Zustandsbildes der Nebenniereninsuffizienz mit dem des traumatischen Schocks. Die vitale Funktion der Nebenniere bestände in der Regelung und Aufrechterhaltung einer normalen

¹⁾ *W. W. Swingle, J. J. Pfiffner, and H. M. Vars, P. A. Bott and W. M. Parkins, Am. Journ. of Physl. 105, 93 (Proceed.), 1933.*

Nahrungsaufnahme, schwere Prostration. Während des Stadiums der voll ausgeprägten Insuffizienz ließ sich außer den genannten Erscheinungen ein eigenartiges Zittern und Wackeln des Schädels beobachten. In einem anderen Versuch traten in diesem Stadium faszikuläre Muskelzuckungen auf, wie sie auch von *Yonkman*¹⁾ beschrieben wurden. Die neuerliche Zufuhr von wirksamem Extrakt beseitigte den bedrohlichen Zustand innerhalb weniger Tage. Eine vier Wochen danach vorgenommene Prüfung eines an sich wirksamen Extraktes in zu geringer Menge führte zu erneutem Auftreten der Insuffizienz, aus der sich das Tier nicht mehr erholte. Die Obduktion ergab vollständiges Fehlen von Nebennierengewebe. Die Schwierigkeit der neuerlichen Beseitigung von Insuffizienzerscheinungen wurde auch von den amerikanischen Autoren hervorgehoben. In letzter Zeit sind wir bei ständig zunehmender Vervollkommenung der Operationstechnik (Verwendung eines Lachgas-Vinylechlorid-Sauerstoff-Gemisches als Narkoticum neben reichlichem Morphin) dazu übergegangen, auch bei Hunden die Entfornung der beiden Nebennieren in einem Operationsakt durchzuführen. Hierbei ließ sich ein solcher Grad von Schonung für das Versuchstier erreichen, daß dieses meist schon eine Stunde nach der Operation ohne Schmerzen, unter der abklingenden Morphinwirkung stehend, frei herumzulaufen vermochte.

Versucht man die Hypothesen von der Funktion des cortico-adrenalen Systems zu sichten, so hegeget man zwei zunächst miteinander unvereinbar scheinenden Auffassungen. *Britton*²⁾ hat diesen Gegensatz mit dem Schlagwort „Carbohydrate versus circulatory theories of cortico-adrenal function“ gekennzeichnet. *Britton* verfißt seine Auffassung von der primären Störung des Kohlenhydrathaushaltes mit folgenden Argumenten: Alle Eingriffe, die am normalen Tier zum Auftreten von Hyperglykämie führen, wie Adrenalininjektion, Narkose, Exzitation, bleiben am

¹⁾ *F.F. Yonkman*, *Proceed. Soc. exper. Biol. a. Med.*, 24, 786, 1926/27.

²⁾ *S.W. Britton*, *Am. Journ. of Physl.*, 105, 11 (*Proceed.*), 1933.

lehaften Durchtritt des Farbstoffes in der ganzen Länge der Kapillaren. Der Unterschied in der Durchlässigkeit des arteriellen und venösen Schenkels der Kapillaren war aufgehoben, der Gradient Null geworden. Grob makroskopisch dokumentierte sich dies in einem erheblich früheren Eintritt der Färbung auf der sympathektomierten Seite.

Ähnliche Verhältnisse können zur Erklärung des pathologischen Transsudationsprozesses nach Nebennierenausfall herangezogen werden. Es geht im Gewebe normal vorkommende Stoffe, die, wie das Histamin, selektiv die Durchlässigkeit der Kapillaren für Blutplasma zu steigern vermögen. Injektionen kleinster Mengen dieses Stoffes unter die Haut führen bekanntlich als Ausdruck der erhöhten Kapillardurchlässigkeit zum Auftreten von Quaddeln. Injiziert man Histamin in genügender Menge in die Blutbahn, so erhält man ein Bild, das durch die schwere Prostration schon äußerlich an den Kollaps nach Nebennierenausfall gemahnt. Die Analogie ist aber eine tiefergehende. Eine Reihe von Störungen, die die Nebenniereninsuffizienz kennzeichnen, lassen sich auch beim Histaminkollaps beobachten. Hierher gehört Bluteindickung und Abnahme des zirkulierenden Blutvolumens, Erhöhung des Blutmilchsäure-Spiegels, Azidose, Abnahme des Glykogengehalts in Leber und Muskulatur, Erhöhung der Reststickstoff- und Kaliumwerte im Serum, Absinken des Natrium- und Chlorspiegels im Serum, Abnahme der Muskelleistung, Brechdurchfall, Herabsetzung der Diurese, eine in der Tat erstaunliche Fülle von ähnlichen Symptomen. Ihre gemeinsame Erklärung finden sie wohl in der durch den Plasmaaustritt bedingten Erschwerung des Sauerstoffdurchtrittes durch die Kapillarwand und der daraus folgenden Gewebsanoxämie. Umgeht sich nämlich das Kapillarrohr mit einem Plasmasaum, dann bestehen infolge der geringen Löslichkeit des Sauerstoffes in der wässrigen Phase erhebliche Schwierigkeiten für seinen Übertritt aus der Bluthahn in das Gewebe. Es bestehen hier ähnliche Verhältnisse, wie sie für die Lunge

zirkulierenden Flüssigkeitsmenge innerhalb der Gefäßbahn. Bei Abwesenheit des Hormons nimmt der Filterprozeß aus der Blutbahn in das Gewebe durch den Kapillarwall hindurch in abnormer Weise zu, während der Flüssigkeitseinstrom in die Blutbahn aufhört. *Swingle* richtet somit sein Hauptaugenmerk auf Permeabilitätsänderungen im Bereich der Kapillaren.

Bietet die Physiologie der Kapillaren eine Handhabe zu einer solchen Vorstellung? Diese Frage muß bejaht werden. Durch die Aufstellung des Begriffes „Gradient der Permeabilität“ durch *Rous, Gilding* und *Smith*¹⁾ ist in letzter Zeit ein weiterer Einblick in die Funktion des Kapillarapparates gegeben worden. Unter diesem Gradient hat man folgendes zu verstehen. Bei Einspritzung von Vitalfarbstoffen in die Blutbahn läßt sich zeigen, daß der Farbstoffdurchtritt nicht in der ganzen Länge der Kapillaren in gleicher Stärke erfolgt, sondern daß am venösen Endo die Färbung des umgehenden Gewebes am schnellsten zustande kommt. Die Durchlässigkeit der Kapillarwand nimmt somit entgegengesetzt dem hydrostatischen Druck von der arteriellen nach der venösen Seite hin mehr und mehr zu, sie zeigt mithin eine Abstufung, einen Gradient. Die Versuche wurden an Muskelkapillaren durchgeführt, wobei sich ergab, daß funktionelle Beanspruchung des Muskels den Gradient normalerweise nicht ändert. Diese Angaben konnten von *Hesselmann*²⁾ bestätigt werden. Darüber hinaus aber fand er, und dies scheint im Zusammenhang mit der bei Nebennierenausfall angenommenen Permeabilitätsstörung an Bedeutung zu gewinnen, daß durch Ausschaltung der sympathischen Innervation der Permeabilitätsgradient zum Verschwinden gebracht wird. Bei Einspritzung der Farbstofflösung in die Blutbahn kommt es auf der operierten Seite — die Versuche werden an der gute Vergleichsmöglichkeiten bietenden Froschzunge durchgeführt — zu einem

1) *P. Rous, P.H. Gilding and F. Smith, Journ. of exper. Med.* 51, 807, 1930; *P. Rous and F. Smith, Journ. of exper. Med.* 53, 195, 1931.

2) *J. Hesselmann, Zeitschr. f. Biol.* 92, 287, 1932.

Histaminmenge einmal allein, sodann gemeinsam mit Nebennierenextrakt intrakutan in den Vorderarm injiziert wurde. Als Indikator wurde das Auftreten bzw. Ausbleiben der Quaddelbildung verwertet. Weiter wurde bei einem Individuum mit starker Urticaria factitia versucht, das Auftreten von Quaddeln an der mit Nebennierenextrakt injizierten Hautstelle durch mechanischen Reiz hervorzurufen. In beiden Fällen schien eine kapillarahdichtende Wirkung des Nebennierenextraktes zu bestehen. Da sich hiermit die Möglichkeit einer weniger umständlichen Wertbestimmung von Nebennierenextrakten ergeben würde, haben wir die restlose Bereinigung dieser Frage in Angriff genommen. Die Schwierigkeit liegt in der gleichzeitigen Wirkung des Adrenalins, das aus den Extrakten ohne Abnahme des lebenserhaltenden Prinzips anscheinend nicht vollständig entfernt werden kann. Man hat nämlich die Tatsache zu berücksichtigen, daß nach Untersuchungen von *Sollmann*¹⁾, *Tainter* und *Hanzlik*²⁾ auch das Adrenalin eine unzweifelhafte Kapillarwirkung besitzt, die sich in einer Abdichtung des Kapillarendothels ausdrückt. Nach der Auffassung *Ashers*³⁾ ist diese Wirkung des Adrenalins auch in physiologischer Beziehung wichtig, weil die erforderliche Adrenalinmenge unter der geringsten zur Blutdrucksteigerung notwendigen liegt. Dem Adrenalin kommt also außer seiner bekannten blutdrucksteigernden noch eine mittelbare hämodynamische Wirkung in kleinsten, am Blutdruck nicht mehr nachweisbaren Dosen zu, die sich auf dem Weg der Regulierung des Flüssigkeitsaustausches zwischen Blutbahn und Gewebe auswirkt.

Daß in der Tat Flüssigkeitswanderungen infolge geänderter Permeabilitätsverhältnisse und nicht so sehr primäre

¹⁾ *T. Sollmann*, *Journ. of Pharmacol.* 10, 147, 1918.

²⁾ *M. L. Tainter* und *P. J. Hanzlik*, *Journ. of Pharmacol.* 24, 179, 1925, *M. L. Tainter*, *Journ. of Pharmacol.* 33, 129, 1928.

³⁾ *L. Asher*, *Bethe-Bergmann-Embsen-Ellingers*, *Handb. d. norm u. pathol Physiol.*, 16/2, 1931.

von Brauer¹⁾ und Rühl²⁾ durch die Aufstellung des Begriffes Pneumonose gekennzeichnet wurden. Auch Eppinger³⁾ stellt in seinem vorzüglichen Referat „Zur Pathologie der Kreislaufkorrelationen“ Änderungen der Kapillarfunktion, insbesondere der Sauerstoffpermeabilität im Zustand des Histaminkollapses als etwas Gegebenes hin.

Rekapitulieren wir den wesentlichen Inhalt der beiden heute herrschenden Theorien von der Nebenniereninsuffizienz, so verlegt die eine (Britton) den primären Sitz in den Gewebstoffwechsel. Auch dann wären die Erscheinungen am besten unter der Annahme einer mangelhaften Oxydation etwa durch Fortfall eines Atmungskatalysators, eben des Hormons, zu verstehen. Die andere Theorie (Swingle) betrachtet Kapillarveränderungen als die erste Etappe. Ihr würde die Gewebsanoxämie auf dem Fuß folgen. In diesem Zusammenhang muß eine wertvolle Beobachtung von Oefelein und Trautwein⁴⁾ aus der Morawitzschen Klinik registriert werden. Die den Tod bei Nebenniereninsuffizienz beherrschende Störung der Atmung und ihre nach Ansicht der Autoren bestehende Ähnlichkeit mit der Blausäurevergiftung veranlaßte sie, den Katalasegehalt des Blutes zu untersuchen. Sie fanden bei Meersechweinen einen mit der zeitlichen Dauer des Nebennierenausfalls zunehmenden Anstieg des Blutkatalasegehalts.

Wir haben versucht, eine Entscheidung zwischen beiden Erklärungsmöglichkeiten dadurch anzuhaken, daß wir die permeabilitätserhöhende Wirkung kleiner Histamindosen durch wirksame Nebennierenextrakte unter Berücksichtigung ihres allfälligen Adrenalingehalts zu kompensieren trachteten. Der Versuch gestaltete sich im einzelnen so, daß eine bestimmte

¹⁾ L. Brauer, Dissertation Schjerning, Beitr. Klin. Tbk. 50, 96, 1921.

²⁾ A. Rühl, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 148, 24, 1930.

³⁾ H. Eppinger, Bethe-Bergmann-Emden-Ellingers Handb. d. norm. u. path. Physiol., Bd. 16/2, 1931.

⁴⁾ F. Oefelein und H. Trautwein, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 165, 131, 1932.

Lengyel¹⁾, von Buell, Strauss und Andrus²⁾ wird eine Störung der Milchsäurebildung behauptet. Die Möglichkeit einer Hemmung der Milchsäureverbrennung wird von Dye³⁾ in Versuchen an Gewebsschnitten abgelehnt. Lang⁴⁾ findet in der Muskulatur nebennierenloser Katzen einen gegenüber der Norm verdoppelten Ammoniakgehalt, während der Phosphatgehalt auf ein Drittel vermindert sein kann. Den Mengenverhältnissen letzterer Substanz widmen auch Ochoa und Grande⁵⁾ ihre Aufmerksamkeit. Von Csik und v. Ludány⁶⁾ wurden Veränderungen der Aktionsform isolierter Muskeln nebennierenloser Frösche gefunden, wie sie als Ermüdungserscheinung auch bei normalen Muskeln eingehend von Parkinson⁷⁾ untersucht wurden. Es handelt sich um eine bei nebennierenlosen Tieren früher einsetzende Verzögerung der Erschlaffung nach erfolgter Kontraktion. Wir selbst bemühten uns, Störungen im Muskelstoffwechsel nachzuweisen, wobei wir wegen einzelner Ähnlichkeiten des Vergiftungsbildes der Methylglyoxalvergiftung mit der Nebenniereninsuffizienz (Bluteindickung, Zunahme des Milchsäuregehalts des Blutes und Abnahme des Glykogengehalts der Organe, Beeinträchtigung der Nieren- und Muskeltätigkeit) an das abnorme Auftreten dieses Stoffes dachten. Soweit es sich um sein Vorkommen im Harn nebennierenloser Tiere handelt, ergaben die Untersuchungen negative Resultate.

Das vorstehende Referat trägt durch die Fülle des Hypothetischen einen zeitgebundenen Charakter. Bei seiner

¹⁾ A. v. Arway und L. Lengyel, Bioch. Zeitschr. 239, 128, 1931.

²⁾ M. V. Buell, M. B. Strauss and E. C. Andrus, Journ. of biol. Chem. 98, 645, 1932.

³⁾ J. A. Dye, Proceed. Soc. exper. Biol. a. Med. 30, 1223, 1933.

⁴⁾ K. Lang, Pflügers Arch. 229, 60, 1931.

⁵⁾ S. Ochoa und F. Grande, Pflügers Arch. 231, 220, 1932; S. Ochoa, Pflügers Arch. 231, 222, 1932.

⁶⁾ L. Csik und G. v. Ludány, Pflügers Arch. 232, 187, 1933.

⁷⁾ J. L. Parkinson, Journ. of Physiol. 78, 106, 1933.

Stoffwechselstörungen das Entscheidende in der Pathologie der Nebenniereninsuffizienz darstellen, dafür sprechen die neuesten klinischen Beobachtungen von *Loeb*¹⁾, ferner von *Harrop*, *Weinstein*, *Soffer* und *Trescher*²⁾. Übersättigt man nämlich den Organismus der an Addison Erkrankten mit Kochsalz und gleicht anseheinend damit osmotische und onkotische Druckdifferenzen aus, die infolge der geänderten Permeabilität zu pathologischen Flüssigkeitsbewegungen führen, so verschwinden die Symptome auch bei Aussetzen des Extraktes. Von einer aus Erstaunliche grenzenden Beseitigung schwerster Addisonsymptome allein durch Kochsalz — die Patientin befand sich bei einem systolisch-diastolischen Blut von 65/48 mm Hg fast in sterbendem Zustand — wird in der eben erwähnten Arbeit von *Loeb* berichtet. Da diese Beobachtung zur selben Zeit und unabhängig auch von *Harrop* und Mitarbeitern gemacht wurde, dürfte an der Tatsache kein Zweifel mehr bestehen. Für die Therapie ergibt sich damit der Vorteil, ähnlich wie dies beim Diabetes der Fall ist, im Verein mit der Hormontherapie als ätiologischer Behandlung durch diätetische Maßnahmen das Auftreten von Kollapsen bei Addisonkranken zu verhüten, allenfalls die Hormonbehandlung intermittierend zu gestalten. Völliger Nebennierenausfall läßt sich wenigstens beim Versuchstier nicht durch Erhöhung der Kochsalzzufuhr allein ausgleichen. Hier ist die Zufuhr von Nebennierenhormon unbedingt erforderlich. Aber auch beim nebennierenlosen Hund wird nach *Harrop* die erforderliche Hormonmenge durch gleichzeitige Kochsalzzufuhr verringert.

Diesen Befunden gegenüber besitzen die Angaben von veränderten Stoffwechselvorgängen, die in der Hauptsache in Untersuchungen an der Muskulatur gewonnen wurden, nur sekundäre Bedeutung, betreffen sie doch ein Gewebe, das längere Zeit unter Sauerstoffmangel gelitten hat. Von *Arvay* und

¹⁾ *R.F.Loeb*, *Proceed. Soc. exper. Biol. a. Med.* 30, 808, 1933.

²⁾ *G.A.Harrop*, *A.Weinstein*, *L.J.Soffer* and *J.H.Trescher*, *Journ. Americ. Med. Ass.* 1933, Nr. 23.

*Lengyel*¹⁾, von *Buell*, *Strauss* und *Andrus*²⁾ wird eine Störung der Milchsäurebildung behauptet. Die Möglichkeit einer Hemmung der Milchsäureverbrennung wird von *Dye*³⁾ in Versuchen an Gewehsschnitten abgelehnt. *Lang*⁴⁾ findet in der Muskulatur nebennierenloser Katzen einen gegenüber der Norm verdoppelten Ammoniakgehalt, während der Phosphatgehalt auf ein Drittel vermindert sein kann. Den Mengenverhältnissen letzterer Substanz widmen auch *Ochoa* und *Grande*⁵⁾ ihre Aufmerksamkeit. Von *Csik* und *v. Luddny*⁶⁾ wurden Veränderungen der Aktionsform isolierter Muskeln nebennierenloser Frösche gefunden, wie sie als Ermüdungserscheinung auch bei normalen Muskeln eingehend von *Parkinson*⁷⁾ untersucht wurden. Es handelt sich um eine bei nebennierenlosen Tieren früher einsetzende Verzögerung der Erschlaffung nach erfolgter Kontraktion. Wir selbst bemühten uns, Störungen im Muskelstoffwechsel nachzuweisen, wobei wir wegen einzelner Ähnlichkeiten des Vergiftungsbildes der Methylglyoxalvergiftung mit der Nebenniereninsuffizienz (Blutoindickung, Zunahme des Milchsäuregehalts des Blutes und Abnahme des Glykogengehalts der Organe, Beeinträchtigung der Nieren- und Muskeltätigkeit) an das abnorme Auftreten dieses Stoffes dachten. Soweit es sich um sein Vorkommen im Harn nebennierenloser Tiere handelt, ergaben die Untersuchungen negative Resultate.

Das vorstehende Referat trägt durch die Fülle des Hypothetischen einen zeitgebundenen Charakter. Bei seiner

¹⁾ *A. v. Arvay* und *L. Lengyel*, *Bioch. Zeitschr.* 239, 128, 1931.

²⁾ *M. V. Buell*, *M. B. Strauss* und *E. C. Andrus*, *Journ. of biol. Chem.* 98, 645, 1932.

³⁾ *J. A. Dye*, *Proceed. Soc. exper. Biol. a. Med.* 30, 1223, 1933.

⁴⁾ *K. Lang*, *Pflügers Arch.* 229, 60, 1931.

⁵⁾ *S. Ochoa* und *F. Grande*, *Pflügers Arch.* 231, 220, 1932; *S. Ochoa*, *Pflügers Arch.* 231, 222, 1932.

⁶⁾ *L. Csik* und *G. v. Luddny*, *Pflügers Arch.* 232, 187, 1933.

⁷⁾ *J. L. Parkinson*, *Journ. of Physiol.* 78, 106, 1933.

Abfassung war der Grundsatz vorherrschend, an Stelle einer Aneinanderreihung von Einzelbeobachtungen leitende Gesichtspunkte hervorzuheben. Dies möge Entschuldigung und Verteidigung zugleich für die Unvollständigkeit der Autorenliste sein.

Zur Stoffverteilung im Organismus

DR. OERHARD HECHT

Aus dem Pharmakologischen Institut der I. O. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

I.

Die Pharmakologie hat seit ihrem Bestehen eine ihrer Aufgaben darin gesehen, den Angriffsort eines Giftes kennen zu lernen, die Zelle oder Zellgruppe zu entdecken, die beim Zusammentreffen mit den Molekülen des Giftes diejenige Funktionsänderung erfährt oder auslöst, die sich dann als Vergiftung manifestiert. Diese Fragestellung enthält das Problem der Giftverteilung, denn der Angriffsort kann nur ein solcher sein, zu dem die Verteilungsmechanismen des Organismus das Gift gelangen lassen. Aber die Verteilung der Gifte bleibt nicht auf die Angriffsorte beschränkt. Zum Beispiel liegt bei der Äthernarkose der Angriffspunkt im Zentralnervensystem; doch nur ein Teil des aufgenommenen Äthers gelangt in das Zentralnervensystem; ein großer Teil wird von Fettgeweben und anderen Organen von seinem Angriffsort abgelenkt. Oder bei der Verabreichung von Digitaliskörpern liegt der Angriffsort im wesentlichen im Herzmuskel, daneben in Niere und Zentralnervensystem. Aber selbst bei der intravenösen Injektion dieser Verbindungen wird nur ein Bruchteil der verabreichten Dosis am Wirkungsort selbst gebunden (*Weese*), der größere Teil wandert in andere Organe ab und verhält sich dort anscheinend indifferent. Solche Beispiele ließen sich beliebig vermehren, und es dürfte wohl kaum Heilmittel geben, für die dieses unökonomische Verhalten nicht zutrifft. Dieses Auseinanderfallen von Verteilung der Hauptmenge des Giftes und Wirkungsort hat sich sogar bis in zelluläre Dimensionen herab verfolgen lassen. Ein Beispiel: Bringt man eine Methylenblaulösung in ein Frosehherz, so zeigt sich rasch die atropinartige Wirkung des Farbstoffes, aber nur langsam kommt es zur Speicherung beträchtlicher Farbmengen in

Muskel- und Nervenzellen. Wird nun mit Ringerlösung angewaschen, so verschwindet die Wirkung sehr rasch, dagegen bleibt die Anfärbung bestehen. Derjenige Ort in der Zelle also, von dem die Giftwirkung ausgeht, ist nicht identisch mit dem, an dem die Speicherung erfolgt (*Cook*). Somit ist die Frage der Giftverteilung kein pharmakodynamisches Problem, und da auch die Gifte nicht prinzipiell von den unter physiologischen Bedingungen im Körper kreisenden Wirkstoffen zu trennen sind, so ist die Frage der Giftverteilung im allgemeinen Problem der Stoffverteilung eingeschlossen, also eine allgemein-physiologische Fragestellung, an der aber gerade die Pharmakologie das größte Interesse und an deren Durchforschung sie auch einen erheblichen Anteil hat. Ihr Interesse an diesen Dingen entspricht nicht nur theoretischen Neigungen, sondern wird in der täglichen Arbeit der Arzneimittelforschung immer mehr zur Vorbedingung für die Lösung mancher praktischen Aufgaben. So ist man z. B. bei der Durcharbeitung eines Narkotikums keineswegs damit befriedigt, daß man den Angriffspunkt kennt, sondern die Frage der Verteilung und Ausscheidung spielt hier eine mindestens ebenso große Rolle. Genau so liegen die Dinge bei chemotherapeutisch wirksamen Mitteln, insbesondere dann, wenn sie schwermetallhaltig sind, und ganz allgemein ist bei jedem Arzneimittel die Frage der Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung von oft ausschlaggebender praktischer Bedeutung. Darüber hinaus ist der Pharmakologe häufig vor die Aufgabe gestellt, Mittel von ganz besonderen Verteilungseigenschaften aufzufinden, wie z. B. Harndesinfizientien oder geradezu Stoffe, bei denen es nur auf Verteilung ankommt, wie z. B. Ausscheidungskontrastmittel.

II.

Die Verteilung irgendwie in den Blutstrom hineingelangender Substanzen unterliegt zwei wesentlich verschiedenen Einflüssen: Sie werden mit dem Blutstrom in alle Organe

entsprechend deren Durchströmungsgröße hineingebracht und ihr Eindringen vom Blut in die Organe wird durch bestimmte Sebranken gehemmt oder durch bestimmte Affinitäten gefördert. Jedes Organ hietet in dieser Hinsicht Besonderheiten; daher kommt es, daß die allgemeinen Vorstellungen über das Eindringen von Stoffen in Zellen, die Theorien der Zellpermeabilität, die meist das Ziel haben, etwas für alle Zellen Gültiges auszusagen, den Verteilungsstudien so wenig Förderung bringen. Denn hier stehen gerade die physikochemischen Besonderheiten der Zellen der einzelnen Organe im Vordergrund, die den physikochemischen Besonderheiten der Stoffe gegenüber zur Auswirkung kommen. Eine solche Besonderheit weist ja auch bereits das Blut auf, das nicht einfach Lösungsmittel ist, sondern viele Stoffe in einer bestimmten Art an die Eiweißkörper gebunden enthält und transportiert (*Bennhold*). Nehmen wir die Regulierung der Stoffverteilung durch die Durchblutung aus unserer Betrachtung heraus, ohne damit deren Bedeutung herabsetzen zu wollen, so bloiht die Frago ührig: Lassen sich Stoffklassen mit Affinitäten zu bestimmten Organen heraussehalen, und lassen sich solche Beziehungen auf physikochemisch durchsichtige Formeln bringen?

Eine so umfassend gestellte Frage macht an die vorliegenden Beobachtungen vorläufig viel zu große Ansprüche. Man kann nur für eng umgrenzte Vorgänge eine Beantwortung erwarten. So wissen wir z. B., daß negativ geladene Teilchen von der Dimension größerer Moleküle his zu grohen Partikeln, wie Tuscho und Bakterien, vom Blutstrom aus alle in die Zellen des Retikulo-Endothels aufgenommen werden (*Schulemann*). Wir haben weiter seit *Meyer* und *Overton* davon Kenntnis, daß das Eindringen von Giften in das Nervensystem irgendetwas mit ihrer Verwandtschaft zu Fettsuhstanzen zu tun hat. Ansätze sind ferner vorhanden in der häufigen Beobachtung der Schwermetallauscheidung durch den Dickdarm, in der Alizarinspeicherung im Knochen, bei der Argyrose usw. Ein physikochemisch aufgeklärter Fall einer Giftspeicherung in einem bestimmten Zellsystem

ist die Anhäufung des Kohlenoxyds in den Erythrocyten auf Grund seiner festen Bindung an das Hämoglobin. Im übrigen ist aber gerade die für die „Selektion“ (*Spiro*) maßgebende Eigenschaft der Zelle derjenige Punkt, der sich der Erklärung immer wieder entzieht, da die Zelle ja kein statisch zu betrachtendes, sondern ein biologisches Objekt ist.

III.

Die Benützung von Farbstoffen für Stoffverteilungsstudien ist eine außerordentlich beliebte Methodik, deren Vorteil auf der Hand liegt. Sie macht die oft schwierige und umständliche analytische Arbeit, wie sie für ungefärbte Stoffe notwendig ist, entbehrlich und erlaubt darüber hinaus nicht nur das Organ, sondern im Mikroskop auch Zelle und Zellort zu erkennen, wo die Speicherung stattfindet. Auf den hohen Wert, den die Ergebnisse der Vitalfärbung für die Fragen der Stoffverteilung dementsprechend haben, sei in diesem Zusammenhang nur hingewiesen.

Zu der Verteilung gehören aber auch die Ausscheidungsvorgänge. Und auch hier bieten Versuche mit Farbstoffen große Vorteile, da sie meist leicht kolorimetrisch bestimmt werden können. Mit solchen Farbstoff-Ausscheidungsversuchen habe ich mich in den letzten Jahren eingehender befaßt. Unsere Kenntnisse von der Verteilung der künstlichen Farbstoffe geben in groben Umrissen ungefähr folgendes Bild: In die Blutbahn hineingebracht, verschwinden die Farbstoffe aus dem Blute mit einer Geschwindigkeit, die um so größer ist, je feiner dispers sie sind. Dabei haben aber die basischen lipoidlöslichen Farbstoffe einen erheblichen Vorsprung vor den sauren (*Krebs* und *Wittgenstein*). Für die sauren Farbstoffe gibt es nun drei Organe, in die sie aus dem Blute hauptsächlich abwandern: Die Leber, die Niere und das Retikulo-Endothel. Die Leber nimmt die Farbstoffe aus dem Blute hauptsächlich auf, um sie in die Galle zu befördern, die Niere, um sie in den Harn hinein abzuscheiden

oder aber in den tubulären Elementen zu speichern, das Retikulo-Endothel ebenfalls, um sie zu speichern. Diese Speicherung im Retikulo-Endothel wird nun nach Intensität und Dauerhaftigkeit durch zunehmende Größe der Farbstoffteilchen begünstigt (*Schulemann*), während die Harnabscheidung umgekehrt an die Diffusibilität der Farbstoffe durch Membranen gebunden ist (*Höber, v. Möllendorff*). Überraschenderweise hatten weitere Versuche *v. Möllendorffs* das Ergebnis gehabt, daß das gleiche auch für die Ausscheidbarkeit von Säurefarbstoffen in die Galle entscheidend sei. Wenn es zutreffen würde, daß auch hierfür tatsächlich ausschließlich der Dispersitätsgrad maßgebend wäre, so würde das bedeuten, daß die große physiologische Verschiedenheit von Galleabscheidung und Harnabscheidung in den Versuchen mit Säurefarbstoffen gar nicht zum Ausdruck käme, während wir von ihnen doch gerade eine Antwort auf die Frage erwarten, welche Stoffeigenschaft die Harnfähigkeit und welche die Galfähigkeit bedingen.

IV.

Mit der Absicht, etwas über diese Frage zu erfahren, habe ich die Ausscheidung von 80 Säurefarbstoffen an Katzen und Kaninchen geprüft. Für die Besprechung der Resultate sind folgende Vorbemerkungen zu machen: Als Ausscheidung auf Grund von aktiver Zelleistung habe ich nicht jedes Auftreten von Farbstoff in dem betreffenden Sekret gedeutet, obwohl man dazu durch die oft intensiven Färbungen verleitet wird, sondern ich spreche von Ausscheidbarkeit erst dann, wenn ein Zehntel oder mehr der intravenös einverleichten Menge wieder erschienen ist. Zweitens habe ich gefunden, daß die übersichtlichsten Resultate dann gewonnen werden, wenn man sich mit der Farbstoffdosis möglichst bescheidet. Ich benutzte meist 10 mg/kg. Überschwemmung mit größten Dosen ist nicht nützlich und nur in gewissen Fällen zur sicheren Ausschließung der Ausscheidbarkeit farbschwacher Farbstoffe notwendig. Ferner ist es zweckmäßig,

ist die Anhäufung des Kohlenoxyds in den Erythrocyten auf Grund seiner festen Bindung an das Hämoglobin. Im übrigen ist aber gerade die für die „Selektion“ (*Spiro*) maßgebende Eigenschaft der Zelle derjenige Punkt, der sich der Erklärung immer wieder entzieht, da die Zelle ja kein statisch zu betrachtendes, sondern ein biologisches Objekt ist.

III.

Die Benutzung von Farbstoffen für Stoffverteilungsstudien ist eine außerordentlich beliebte Methodik, deren Vorteil auf der Hand liegt. Sie macht die oft schwierige und umständliche analytische Arbeit, wie sie für ungefärbte Stoffe notwendig ist, entbehrlich und erlaubt darüber hinaus nicht nur das Organ, sondern im Mikroskop auch Zelle und Zellort zu erkennen, wo die Speicherung stattfindet. Auf den hohen Wert, den die Ergebnisse der Vitalfärbung für die Fragen der Stoffverteilung dementsprechend haben, sei in diesem Zusammenhang nur hingewiesen.

Zu der Verteilung gehören aber auch die Ausscheidungsvorgänge. Und auch hier bieten Versuche mit Farbstoffen große Vorteile, da sie meist leicht kolorimetrisch bestimmt werden können. Mit solchen Farbstoff-Ausscheidungsversuchen habe ich mich in den letzten Jahren eingehender befaßt. Unsere Kenntnisse von der Verteilung der künstlichen Farbstoffe geben in groben Umrissen ungefähr folgendes Bild: In die Blutbahn hineingebracht, verschwinden die Farbstoffe aus dem Blute mit einer Geschwindigkeit, die um so größer ist, je feiner dispers sie sind. Dabei haben aber die basischen lipoidlöslichen Farbstoffe einen erheblichen Vorsprung vor den sauren (*Krebs* und *Wittgenstein*). Für die sauren Farbstoffe gibt es nun drei Organe, in die sie aus dem Blute hauptsächlich abwandern: Die Leber, die Niere und das Retikulo-Endothel. Die Leber nimmt die Farbstoffe aus dem Blute hauptsächlich auf, um sie in die Galle zu befördern, die Niere, um sie in den Harn hinein abzuschcheiden

oder aber in den tubulären Elementen zu speichern, das Retikule-Endothel ebenfalls, um sie zu speichern. Diese Speicherung im Retikule-Endothel wird nun nach Intensität und Dauerhaftigkeit durch zunehmende Größe der Farbstoffe begünstigt (*Schulemann*), während die Harnausscheidung umgekehrt an die Diffusibilität der Farbstoffe durch Membranen gebunden ist (*Höber, v. Möllendorff*). Überraschenderweise hatten weitere Versuche *v. Möllendorffs* das Ergebnis gehabt, daß das gleiche auch für die Ausscheidbarkeit von Säurefarbstoffen in die Galle entscheidend sei. Wenn es zutreffen würde, daß auch hierfür tatsächlich ausschließlich der Dispersitätsgrad maßgebend wäre, so würde das bedeuten, daß die große physiologische Verschiedenheit von Galleabscheidung und Harnabscheidung in den Versuchen mit Säurefarbstoffen gar nicht zum Ausdruck käme, während wir von ihnen doch gerade eine Antwort auf die Frage erwarten, welche Stoffeigenschaft die Harnfähigkeit und welche die Galfähigkeit hedingen.

IV.

Mit der Absicht, etwas über diese Frage zu erfahren, habe ich die Ausscheidung von 80 Säurefarbstoffen an Katzen und Kaninchen geprüft. Für die Besprechung der Resultate sind folgende Vorbemerkungen zu machen: Als Ausscheidung auf Grund von aktiver Zelleistung habe ich nicht jedes Auftreten von Farbstoff in dem betreffenden Sekret gedeutet, obwohl man dazu durch die oft intensiven Färbungen verleitet wird, sondern ich spreche von Ausscheidbarkeit erst dann, wenn ein Zehntel oder mehr der intravenös einverleibten Menge wieder erschienen ist. Zweitens habe ich gefunden, daß die übersichtlichsten Resultate dann gewonnen werden, wenn man sich mit der Farbstoffdosis möglichst bescheidet. Ich benutzte meist 10 mg/kg. Überschwemmung mit größten Dosen ist nicht nützlich und nur in gewissen Fällen zur sicheren Ausschließung der Ausscheidbarkeit farbschwacher Farbstoffe notwendig. Ferner ist es zweckmäßig,

die rasch verlaufenden Ausscheidungsvorgänge bevorzugt zu betrachten. Meine Versuche beschränken sich meist auf eine Dauer von 6 Stunden. Endlich gibt es z. B. Farbstoffe, die gut harnfähig sind und nicht in der Galle erscheinen, mit denen aber dann der Versuch am nierenlosen Tier ergibt, daß sie hier in beachtlicher Menge in die Galle ausgeschieden werden, oder solche, die an sich nicht in den Harn hincingelangen, wohl aber bei Gallenstauung. Solche Versuche mit Anschaltung des einen oder anderen Ausscheidungsorganes waren also zur Gewinnung übersichtlicher Resultate ebenfalls notwendig.

Die physikochemischen Eigenschaften der benutzten Farbstoffe waren zum Teil aus der Literatur bekannt. Um aber an einheitlicher Methodik gewonnene Vergleichsresultate zu erhalten, habe ich bei allen Farbstoffen einerseits ihre Diffusibilität durch Cellophan-Membranen und andererseits ihre Salzfällbarkeit bestimmt.

Wurde nun an Hand der so gewonnenen Resultate die Harnfähigkeit mit den Ergebnissen der physikochemischen Versuche verglichen, so ergab sich eine völlige Bestätigung der Dispersitätsprinzipie von Höber und von v. Möllendorff, d. h. nur solche Säurefarbstoffe, die sehr fein zerteilt sind und vermutlich dem molekulardispersen Lösungszustand sehr nahe stehen, sind in den oben angegebenen Grenzen harnfähig. Zwar gibt es auch sicher kolloide Farbstoffe, wie z. B. das Trypanblau, deren Auftreten im Harn schon an dessen intensiver Färbung erkennbar ist. Aber in solchen Fällen ist quantitativ die ausgeschiedene Menge stets erheblich kleiner als ein Zehntel der einverleibten. Auch entgegengesetzte Ausnahmen, nämlich, daß molekular disperse Farbstoffe nicht in den Harn gelangten, kamen wohl zur Beobachtung, doch war auch hier die Deutung immer recht naheliegend: es handelte sich um solche Farbstoffe, von denen eine leichte Zerstörbarkeit im Stoffwechsel erwartet werden konnte. Als Beispiel sei das Phenolphthalein erwähnt.

Es ist naheliegend, aus diesem Ergebnis zu schließen, daß die Nierenausscheidung der Farbstoffe, entsprechend den modernen Anschauungen über die Nierenleistung, durch Ultrafiltration im Glomerulus und Eindickung im Tubulus zustande kommt, ein Vorgang, der nur bei fein zerteilten Farbstoffen erwartet werden kann. Immerhin ist eine Beweisführung dieser Anschauung an Hand meiner Beobachtungen nicht möglich, und es soll hier nicht unerwähnt bleiben, daß sie im Widerspruch steht zu manchen neueren Beobachtungen Höbers.

Irgendeine Beziehung zwischen Gallefähigkeit der Saurefarbstoffe und ihrem Lösungszustand, soweit er sich in den genannten Modellversuchen zu erkennen gibt, besteht dagegen bei meinen Versuchen im Gegensatz zu denen von v. Mollendorff nicht (vgl. auch Brugsch und Horsters, Tada). Sehr gut gallefähige Farbstoffe befinden sich sowohl unter den leicht diffusiblen, wenig salzempfindlichen, sowie auch unter den nicht diffusiblen, schon ohne Salzzusatz schwer löslichen Farbstoffen. Auch die nicht gallefähigen Farbstoffe — die Nichtgallefähigkeit wurde, wie oben erwähnt, stets in Versuchen an nierenlosen Tieren sichergestellt — sind ebenso regellos in allen Gebieten des Lösungszustandes eingestreut. Insofern besteht also schon eine beachtliche Differenz in den physikochemischen Voraussetzungen für Harnfähigkeit und Gallefähigkeit. Dagegen aber gelang es nicht, einen physikochemischen Modellversuch aufzufinden, der der Gallefähigkeit parallele Resultate lieferte. Es wurden in dieser Hinsicht noch Versuche über die Lipoidlöslichkeit im Nirenstein-schen Lipoidgemisch sowie auch solche über die Schutzkolloidwirkung der Gallensaure gegenüber der Salzfällung der Farbstoffe gemacht. Diese letztere Wirkung tritt bei vielen kolloiden Säurefarbstoffen recht deutlich zutage und fehlt bei anderen völlig. Aber auch diese Resultate stehen in keiner Beziehung zur Gallefähigkeit.

Endlich wurde in der engeren Reihe der sauren Mono- und Disazofarbstoffe, von denen 60 zur Untersuchung gekommen

waren, ein Vergleich der chemischen Konstitutionsformeln und des Resultates der Gallenausscheidungsprüfung vorgenommen. Dabei ergab sich nun eine sehr auffallende Tatsache: Es zeigte sich nämlich, daß nur solche Farbstoffe, die eine bis höchstens drei Sulfogruppen am Molekül tragen, in die Galle ausgeschieden werden können, niemals dagegen solche, die 4 oder mehr Sulfogruppen besitzen. Es wurden allerdings einige Farbstoffe beobachtet, die trotz geringer Zahl von Sulfogruppen nicht in die Galle übergingen. Es handelt sich um solche, die ganz besonders schwer löslich sind. In einigen Fällen gelang dann der Nachweis der Gallenfähigkeit doch noch, nachdem eine mit gallensauren Salzen als Schutzkolloid hergestellte Lösung zur Injektion benutzt wurde. Offensichtlich ist der Grund der, daß Farbstoffe, die als grobe Teilchen im Blute zirkulieren, nicht vom Blute aus in die Leberzellen hineingelangen und somit auch nicht in die Galle weiterbefördert werden können. Diese Ausnahmen sind also nicht in der Lage, die gefundene Gesetzmäßigkeit erschüttern zu können.

Welche Deutung kann man nun diesem eigenartigen Prinzip geben? Es ist auffallend, daß eine Eigenschaft des Farbstoff-einzelmoleküls über die Ausscheidbarkeit in die Galle hinein entscheidet, da man doch annehmen muß, daß in den meisten Fällen nicht Einzelmoleküle, sondern mehr oder weniger große Konglomerate von Molekülen vorliegen. Es ist zweifellos, daß die Eigenschaften der Einzelmoleküle die der daraus gebildeten Micellen maßgebend beeinflussen. Aber es bleibt doch rätselhaft, warum dann diese Eigenschaften in den ausgeführten Reagensglasversuchen gar nicht zum Ausdruck gekommen sind.

Wenn nun die Gallenfähigkeit von sauren Azofarbstoffen bei einer bestimmten Zahl von Sulfogruppen im Molekül aufhört, so muß man annehmen, daß das für die Gallenfähigkeit maßgebende Moment die Ionisation und Hydratation der Micelle ist. Wenn die Verwandtschaft des Teilchens zum Wasser zu groß ist, so kann es nicht mehr in die Galle ausgeschieden werden. Von diesem Gesichtspunkt aus reiht sich auch eine Anzahl von sauren

Farbstoffen, die nicht zu den Azoderivaten gehören, an dasselbe Prinzip an, nämlich die Phenolphthalein- und Fluoreszeinderivate. Von diesen ist ja schon lange bekannt, daß sie mit zunehmender Halogensubstitution zunehmend gallefähig werden. Halogensubstitution bedeutet aber Verminderung der Verwandtschaft zum Wasser.

Die gefundene Gesetzmäßigkeit regt dazu an, sich von dem feineren Vorgang der Ausscheidung eines Stoffes durch die Leber in die Galle hinein ein hypothetisches Bild zu machen. Ich möchte an dieser Stelle nur andeuten, daß es wohl am einleuchtendsten ist, daß die gallefähigen Stoffe dabei in der Leberzelle an andere Stoffe angelagert werden, die ebenfalls geringe Verwandtschaft zum Wasser besitzen, vielleicht die Gallensäuren, und dann mit diesen zusammen in die Galle hinein abgestoßen werden. Aber es wäre verfrüht, darüber detaillierte Hypothesen aufzustellen.

V.

Ich glaube mit der gefundenen Gesetzmäßigkeit einen neuen interessanten Gesichtspunkt zu dem großen Problem der Stoffverteilung im Organismus und ihrer physikochemischen Voraussetzungen beigebracht zu haben. Sehr zu begrüßen wäre es, wenn es dem Physikochemiker gelingen würde, die kolloidchemischen Auswirkungen der Zahl der sauren Substituenten, die sich als biologisch so wesentlich erwiesen hat, in vitro darzutun und uns somit einen neuen Modellversuch zur Charakterisierung kolloider Stoffe für biologische Zwecke zu liefern.

Gerade dieser Spezialfall weist darauf hin, welche verborgenen und unerwarteten Stoffeigenschaften für die Verteilungsvorgänge maßgebend sein können. Sicherlich sind die Gesetzmäßigkeiten der Verteilungen nicht weniger komplex, als sie eben in dem biologischen Milieu erwartet werden können. In bezug auf diejenige Hypothese, die sie alle unter einen einheitlichen Gesichtspunkt bringen will, nämlich die Annahme *Kellers* von der überragenden Bedeutung der elektrischen Potentiale für die

Stoffwanderungen, die trotz aller Ungereimtheiten in der Darstellung gerade durch ihre Einheitlichkeit besticht, muß daher gesagt werden, daß sie bisher bestenfalls den Rang einer Arbeitshypothese hat. Ein unbefangenes Sammeln der Beobachtungen scheint mir aber in diesem Neuland zur Zeit noch von größerem Wert zu sein.

Wege zur Auffindung des Kallikrein (Padutin) und seiner biologischen Zusammenhänge

DR. F. SCHULTZ

Aus dem Physiologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Aus dem Arbeitsgebiet des Kallikrein sei hier ein Auschnitt gegeben, der einmal die Wege aufzeigen möge, die — wechselweise von Beobachtungen aus der Klinik und der Chemie ausgehend — zu dem heutigen Stand unserer Kenntnis auf diesem Gebiete geführt haben.

Den Anstoß zu den Arbeiten über das Kallikrein und seine biologischen Zusammenhänge gab ein zufälliger Befund von *E.K.Frey* — damals an der Chirurgischen Klinik in München — gelegentlich einer experimentellen Untersuchung über die Beziehungen zwischen Kreislauf und Nierentätigkeit. Er stellte fest, daß intravenöse Injektion von Harn bei einem Hund, dessen Blutdruck durch ein Membranmanometer aufgezeichnet wurde, eine starke und charakteristische Umgestaltung der Carotisdruockkurve hervorrief. Die typische Kreislaufwirkung, die sich in einer Senkung des mittleren Blutdruckes und gleichzeitiger Vergrößerung der Herzamplitude dokumentiert, tritt prinzipiell auf, gleichgültig, ob es sich um normalen oder pathologischen Menschenharn handelt oder solchen von fleisch- oder pflanzenfressenden Tieren; die Unterschiede sind lediglich quantitativer Art. *Frey* schloß aus diesen Befunden, daß es sich hier um eine wahrscheinlich noch unbekannte physiologisch aktive Substanz — später Kallikrein genannt — handeln müsse. Zur Bearbeitung dieser Frage, die ihn in die Grenzgebiete der Chemie führen mußte, sicherte er sich die Mitarbeit des Chemikers *H. Kraut* und seiner Schüler.

Der einmal gegebene Impuls pflanzte sich nach verschiedenen Richtungen fort. Zunächst war es notwendig, eine sichere Methode zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung des

fraglichen Körpers zu schaffen. Denn darin lag die unerläßliche Voraussetzung für ein erfolgreiches Angehen des Problems. Andererseits galt es, dem für die biologische Wirkung verantwortlichen Stoff auf chemischem Wege nachzugehen, ihn herauszulösen aus dem Verband der zahllosen, mehr oder weniger indifferenten Begleitstoffe und ihn abzugrenzen gegen ähnlich wirkende, bekannte Substanzen.

Es zeigte sich sehr bald, daß eine chemische Reaktion zur Erkennung und Messung des Kallikrein nicht zu finden war. Alle Farb- oder Fällungsreaktionen erwiesen sich als unspezifisch. So blieb allein die biologische Auswertung. Systematisch wurde eine pharmakologische Analyse der Kallikrein-Wirkung durchgeführt mit dem Ziel, diejenige Teilreaktion des gesamten Wirkungskomplexes herauszuschälen, die am einfachsten und genauesten ermöglichte, den beobachteten Effekt in Maß und Zahl auszudrücken. Das Ergebnis war eindeutig. Es lehrte, daß als Testtier nur der Hund in Frage kam, an dem eine genaue Standardisierung möglich war durch Registrierung des Blutdruckes mit Hilfe des *Frank-Petterschen* Manometers. Die Auswertung der nach intravenöser Injektion erhaltenen Silhouettenkurven erfolgte durch Messung der Blutdrucksenkung und Amplitudenüberhöhung. Nach Ausschaltung aller Fehlerquellen war es möglich, den Kallikrein-Gehalt der Präparate auf 10 % genau zu bestimmen. Damit war der Weg zur chemischen Bearbeitung frei.

Der Isolierung stellten sich von vornherein erhebliche Schwierigkeiten in den Weg. Das kreislaufwirksame Prinzip erwies sich als äußerst labil; Temperaturen über 60° zerstören reinere Präparate in kurzer Zeit, ebenso Säure oder Alkali jenseits der Grenzen von pH 5—8. Dazu kommt, daß die Konzentration des Stoffes so minimal ist, daß selbst mit einem sehr spezifischen Reagens an eine Ansäuerung nicht gedacht werden kann. Wir wissen heute, daß sich das Kallikrein beispielsweise im Harn in einer Konzentration von bestimmt weniger als 0,00007 % vor-

findet und daß das reine Kallikrein weniger als 0,0046 % der festen Harnbestandteile ausmacht; oder anders ausgedrückt: von 22000 Teilen fester Substanz ist höchstens 1 Teil Kallikrein.

Die üblichen chemischen Verfahren, wie sie beispielsweise zur Gewinnung der biogenen Amine gebräuchlich sind, versagten beim Kallikrein völlig, da sie der hohen Empfindlichkeit dieser Substanz keinerlei Rechnung trugen. Es mußten subtilere Methoden gesucht werden; und zwar boten diejenigen die meiste Aussicht auf Erfolg, die dem physiologischen Geschehen im Organismus am nächsten kommen: Dialysen, Ultrafiltrationen, Adsorption und Elution, Arbeit bei einer Temperatur nicht über 37° und bei einem pH möglichst nahe dem Neutralpunkt. Außerordentlich hemmend für den Fortschritt der Arbeit war die Notwendigkeit, für jede neue Adsorption Reihenversuche ausführen zu müssen, deren jedes Einzelglied im Tierversuch abermals reihenmäßig einzugabeln und auszuwerten war. So bedurfte es jahrelanger Kleinarbeit, bis es uns gelang, zu Präparaten vorzudringen, in denen eine Wirkungseinheit nur noch gebunden ist an 3,5 γ , während sie im menschlichen Harn mit 75 mg fester Substanz vergesellschaftet ist. Das bedeutet eine mehr als 20000fache Reinigung. Trotzdem ist das Ziel der Isolierung auch heute noch nicht erreicht, wenn man auch annehmen darf, der reinen Substanz nahe zu sein. Da man über den Aufbau des Moleküls bisher nur negative Aussagen machen kann, ist jeder Versuch, das Kallikrein einer bestimmten chemischen Gruppe einzugliedern, verfrüht.

Die Fortschritte in der Herstellung reiner Präparate einerseits und die Auswertung der pharmakologischen Analyse andererseits führten wieder auf klinisches Gebiet, indem sie uns ermöglichten, die Indikationsgebiete zu erkennen und mit hochwertigen Präparaten die Prüfung am Krankenbett zu beginnen. Diese Präparate wurden später in Elberfeld so weit vervollkommen, daß die heutigen Handelsformen des Kallikrein — Padutin genannt — allen Anforderungen an Reinheit, Haltbarkeit und Verträglichkeit entsprechen.

Während der jahrelangen chemischen Bearbeitung des Harns waren eine ganze Reihe neuer und interessanter Probleme aufgetaucht. Es war unwahrscheinlich, daß das Vorkommen einer physiologisch so hochwirksamen Substanz im Organismus ein zufälliges sei. Vielmehr mußte dieser Stoff, teleologisch betrachtet, eine bestimmte Funktion zu erfüllen haben. Die späteren Erkenntnisse führten zu der Überzeugung, daß das Kalikrein im Sinne eines Hormons in die Kreislaufvorgänge eingreife, weshalb es auch als Kreislaufhormon bezeichnet wird. Den ersten Einblick in diese biologischen Zusammenhänge vermittelte uns wiederum eine klinische Beobachtung: Nach einer postoperativen Anurie war zu erwarten, daß mit dem zuerst ausgeschiedenen Harn eine besonders große Menge Kalikrein angeschwemmt werden würde. Das Gegenteil war der Fall. Die ersten beiden Urinausscheidungen nach der Harnsperrre waren im Tierversuch fast wirkungslos, erst die dritte war stark wirksam. Eins allerdings war auffallend: die beiden ersten Harne waren stark bluthaltig, der dritte fast gar nicht. Zur Feststellung, ob zwischen dem erhöhten Blutgehalt und der verminderten physiologischen Wirksamkeit ein kausaler Zusammenhang bestände, prüften wir den Einfluß von Blut und Serum auf Normalharn und reinere Kalikrein-Präparate. Es zeigte sich, daß schon der Zusatz kleiner Mengen von Blut oder Serum genügte, um die Kreislaufwirkung völlig aufzuheben. Dabei handelt es sich aber keineswegs um eine Zerstörung der wirksamen Substanz; denn die inaktive Verbindung kann durch Zusatz von Säure zerlegt und das Kalikrein wieder zur Wirksamkeit gebracht werden — eine Beobachtung, wie sie bisher nur aus der Serologie bekannt ist.

Durch Versuche in vivo ließ sich zeigen, daß die Inaktivierung nicht etwa von einer Veränderung des Blutes in vitro abhängt, sondern durch einen sich im normalen Blute innerhalb der Gefäßbahn abspielenden Vorgang bedingt ist. Klemmt man nämlich das reichlich mit Blut gefüllte Stück der Vena jugularis eines Hundes an zwei Stellen ab und injiziert in das Stück

zwischen den beiden Klemmen einige Einheiten Kallikrein, so läßt sich eine Stunde später bei Freigabe der Zirkulation keinerlei Wirkung auf den Kreislauf mehr feststellen. Macht man aber die Gegenprobe, indem man das Kallikrein in die blutleere, abgeklemmte Vene injiziert, so übt die Substanz eine Stunde später nach Freigabe der Strombahn noch ihre volle Wirkung aus.

Diese Beobachtungen führten zur Annahme eines weiteren, bisher unhekannten Stoffes, eines „Inaktivators“, als Gegenstoff des Kallikrein im Blute. Damit ergaben sich neue Gesichtspunkte und Fragestellungen für den Chemiker: Was für eine Substanz ist für die Inaktivierung verantwortlich zu machen, findet sie sich außer im Blute auch in bestimmten Organen, und nach welchen Gesetzen vollzieht sich diese eigenartige Reaktion?

Solange mit Serum gearbeitet wurde, schien eine Isolierung oder auch nur Reinigung des Inaktivators auf unüberwindliche Hindernisse zu stoßen, da, wie wir heute wissen, anseheinend ein Ferment des Blutes den Inaktivator allmählich zerstört. Erst als bei der chemischen Aufarbeitung gewisser Organe gefunden wurde, daß der Organismus viel ergiebigere Inaktivatorquellen hat als das Blut, konnte an eine Klärung dieser Frage herangegangen werden. Es wurde nämlich festgestellt, daß in den Lymph- und Ohrspeicheldrüsen, in Milz, Leber und Rückenmark der Rinder sowie in menschlicher Lymphe der Inaktivator in verhältnismäßig großer Konzentration vorhanden ist. Die aus tierischen Organen hergestellten Extrakte erwiesen sich einer chemischen Reinigung leicht zugänglich, so daß bei den reinsten Präparaten 6 γ genügten, um eine Kallikrein-Einheit zu inaktivieren. Die Inaktivierungsfähigkeit dieser Lösungen wird durch Einwirkung von Trypsin-Kinase wie von enterokinasefreiem Trypsin zerstört. Daraus geht hervor, daß der Inaktivator in die Klasse der Polypeptide einzureihen ist.

Mit Hilfe dieser verhältnismäßig reinen Präparate war es möglich, die Gesetze des Inaktivierungsvorganges selbst zu

Während der jahrelangen chemischen Bearbeitung des Harns waren eine ganze Reihe neuer und interessanter Probleme aufgetaucht. Es war unwahrscheinlich, daß das Vorkommen einer physiologisch so hochwirksamen Substanz im Organismus ein zufälliges sei. Vielmehr mußte dieser Stoff, teleologisch betrachtet, eine bestimmte Funktion zu erfüllen haben. Die späteren Erkenntnisse führten zu der Überzeugung, daß das Kallikrein im Sinne eines Hormons in die Kreislaufvorgänge eingreife, weshalb es auch als Kreislaufhormon bezeichnet wird. Den ersten Einblick in diese biologischen Zusammenhänge vermittelte uns wiederum eine klinische Beobachtung: Nach einer postoperativen Anurie war zu erwarten, daß mit dem zuerst ausgeschiedenen Harn eine besonders große Menge Kallikrein ausgeschwemmt werden würde. Das Gegenteil war der Fall. Die ersten beiden Urinausscheidungen nach der Harnsperrung waren im Tierversuch fast wirkungslos, erst die dritte war stark wirksam. Eins allerdings war auffallend: die beiden ersten Harne waren stark bluthaltig, der dritte fast gar nicht. Zur Feststellung, ob zwischen dem erhöhten Blutgehalt und der verminderten physiologischen Wirksamkeit ein kausaler Zusammenhang bestände, prüften wir den Einfluß von Blut und Serum auf Normalharn und reinere Kallikrein-Präparate. Es zeigte sich, daß schon der Zusatz kleiner Mengen von Blut oder Serum genügt, um die Kreislaufwirkung völlig aufzuheben. Dabei handelt es sich aber keineswegs um eine Zerstörung der wirksamen Substanz; denn die inaktive Verbindung kann durch Zusatz von Säure zerlegt und das Kallikrein wieder zur Wirksamkeit gebracht werden — eine Beobachtung, wie sie bisher nur aus der Serologie bekannt ist.

Durch Versuche in vivo ließ sich zeigen, daß die Inaktivierung nicht etwa von einer Veränderung des Blutes in vitro abhängt, sondern durch einen sich im normalen Blute innerhalb der Gefäßbahn abspielenden Vorgang bedingt ist. Klemmt man nämlich das reichlich mit Blut gefüllte Stück der Vena jugularis eines Hundes an zwei Stellen ab und injiziert in das Stück

Prinzips durch fermentative Zerstörung des Inaktivators. Behandelt man Blut mit dem pflanzlichen Enzym Papain und entfernt gleichzeitig die die Reaktion hemmenden Spaltprodukte durch Dialyse, so lassen sich nach Stunden erhebliche Mengen aktiven Kallikrein im Tierversuch nachweisen. Viel ertragreicher ist folgendes Verfahren: Man versetzt Blut oder Serum mit Aceton und läßt es einige Tage stehen. Das Keton bewirkt offenbar die Einleitung eines fermentativen Prozesses, der den Inaktivator zerstört und das Kallikrein aus seiner inaktiven Verbindung in Freiheit setzt; und zwar läßt sich auf diese Weise zeigen, daß in 1 ccm Menschenblut etwa ebensoviel enthalten ist wie in 10 ccm Harn. Dieser unmittelbare Nachweis im Blute ist eine starke Stütze für die Annahme der hormonalen Natur des Kallikrein.

Die eigentliche Kernfrage des ganzen Problems war aber noch offen: Welches ist die Bildungsstätte dieses Stoffes, der in so großen Mengen im Blute kreist? Diese Frage konnte, wenn überhaupt, offenbar nur auf zwei Wegen gelöst werden. Es war denkbar, daß der Chemiker eines Tages in irgendeinem Organ außergewöhnliche Mengen Kallikrein fand; oder der Mediziner mußte feststellen, daß nach Ausschaltung eines Organs oder bei Drosselung der Zufuhr bestimmter Stoffe der Kreislaufhormonspiegel im Blute absank. Versuche in beiden Richtungen blieben jahrelang erfolglos. Vielmehr war es wiederum eine Beobachtung aus der Klinik, die uns den richtigen Weg wies. In der Berliner *Sauerbruchschen* Klinik untersuchte ich laufend alle erreichbaren physiologischen und pathologischen Körperflüssigkeiten: den Inhalt von Hydrocelen, Liquorcysten, seröse Ergüsse im Pleuraraum, im Peritoneum, in den Gelenken usw. Niemals waren wesentliche Mengen Kallikrein nachweisbar. Um so überraschender war die Feststellung, daß eine durch Operation aus einer großen Pankreascyste gewonnene Flüssigkeit 3000 Einheiten des Kreislaufstoffes enthielt — das ist so viel, wie in 15 Litern menschlichen Harns enthalten ist. Durch Adsorption ließ sich

studieren. Man fand, daß die Inaktivierung eine Zeitreaktion darstellt, einen reversiblen Vorgang, der je nach der Menge der reagierenden Stoffe und dem pH der Lösung zu einem bestimmten Gleichgewicht zwischen Kallikrein, Inaktivator und inaktiviertem Kallikrein führt. Zwischen den verbrauchten Inaktivator-mengen und der Wasserstoffionenkonzentration besteht eine einfache Beziehung: Die Logarithmen der zur Aufhebung einer bestimmten Kallikrein-Menge notwendigen Inaktivator-mengen sind eine lineare Funktion des pH . Das Optimum für die inaktive Verbindung liegt bei pH 8. Am Neutralpunkt braucht man schon die doppelte, bei pH 6,2 die fünffache Menge Inaktivator, um dieselbe Dosis Kallikrein zu binden. Bei pH 5 findet überhaupt keine Inaktivierung mehr statt.

Erst diese rein chemischen Erkenntnisse gaben dem Mediziner die Möglichkeit, sich ein Bild von dem Ablauf des biologischen Geschehens zu machen. Die aufgestellten Reaktionskurven zeigten klar, daß selbst geringfügige Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration, wie sie im Organismus vorkommen, das Gleichgewicht des Kallikrein-Inaktivator-Systems zugunsten der einen oder anderen Phase wesentlich verschieben. Die praktische Folge einer derartigen Gleichgewichtsverschiebung ist, daß unter physiologischen Bedingungen erhebliche Mengen Kreislaufhormon im strömenden Blut in Freiheit gesetzt und zur Wirkung gebracht bzw. gebunden werden können. Diese Funktion stellt also einen empfindlichen Regulationsmechanismus dar, durch den der Organismus die Kallikrein-Wirkung steuern kann.

Wenn die eben gezogenen Schlußfolgerungen richtig waren, so mußte es auch möglich sein, das im Blute in inaktiver Form enthaltene Kallikrein *in vitro* aus seiner unwirksamen Verbindung herauszusprengen und seine Menge im Tierversuch zu bestimmen. Der Nachweis im Blute wird erschwert durch die große Zahl der begleitenden Eiweißstoffe und durch die starke und veränderliche Giftwirkung des aus dem Organismus entnommenen Blutes. Trotzdem glückte die Freilegung des kreislaufwirksamen

Prinzips durch fermentative Zerstörung des Inaktivators. Be-
handelt man Blut mit dem pflanzlichen Enzym Papain und
entfernt gleichzeitig die die Reaktion hemmenden Spaltprodukte
durch Dialyse, so lassen sich nach Stunden erhebliche Mengen
aktiven Kallikrein im Tierversuch nachweisen. Viel ertrag-
reicher ist folgendes Verfahren: Man versetzt Blut oder Serum
mit Aceton und läßt es einige Tage stehen. Das Keton he-
wirkt offenbar die Einleitung eines fermentativen Prozesses, der
den Inaktivator zerstört und das Kallikrein aus seiner inaktiven
Verbindung in Freiheit setzt; und zwar läßt sich auf diese Weise
zeigen, daß in 1 ccm Menschenblut etwa ebensoviel enthalten ist
wie in 10 ccm Harn. Dieser unmittelbare Nachweis im Blute ist
eine starke Stütze für die Annahme der hormonalen Natur des
Kallikrein.

Die eigentliche Kernfrage des ganzen Problems war aber
noch offen: Welches ist die Bildungsstätte dieses Stoffes, der in
so großen Mengen im Blute kreist? Diese Frage konnte, wenn
überhaupt, offenbar nur auf zwei Wegen gelöst werden. Es war
denkbar, daß der Chemiker eines Tages in irgendeinem Organ
außergewöhnliche Mengen Kallikrein fand; oder der Mediziner
mußte feststellen, daß nach Ausschaltung eines Organs oder bei
Drosselung der Zufuhr bestimmter Stoffe der Kreislaufhormon-
spiegel im Blute absank. Versuche in beiden Richtungen hielten
jahrelang erfolglos. Vielmehr war es wiederum eine Beobachtung
aus der Klinik, die uns den richtigen Weg wies. In der Berliner
Sauerbruchschen Klinik untersuchte ich laufend alle erreichbaren
physiologischen und pathologischen Körperflüssigkeiten: den In-
halt von Hydrocelen, Liquorcysten, seröse Ergüsse im Pleura-
raum, im Peritoneum, in den Gelenken usw. Niemals waren
wesentliche Mengen Kallikrein nachweisbar. Um so überraschen-
der war die Feststellung, daß eine durch Operation aus einer
großen Pankreascyste gewonnene Flüssigkeit 3000 Einheiten des
Kreislaufstoffes enthielt — das ist so viel, wie in 15 Litern
menschlichen Harns enthalten ist. Durch Adsorption ließ sich

ein Teil der wirksamen Substanz aus dem Cysteninhalte in reinerer Form altrennen, und mit diesem Präparat konnte chemisch und pharmakologisch eindeutig nachgewiesen werden, daß der wirksame Stoff mit dem unserer reinsten, aus dem Harn gewonnenen Präparate identisch war. Eine chemische Aufarbeitung der Pankreasdrüsen selbst bestätigte unsere Vermutung: Im Gegensatz zu allen aus anderen Organen hergestellten Präparaten zeigten die Pankreasextrakte eine außerordentlich starke Kreislaufwirkung. Somit ist die Bauchspeicheldrüse zumindest als Stapelplatz, möglicherweise als Ursprungsstätte des Kallikrein anzusehen.

Auf andere Weise ließ sich zeigen, daß das Pankreas auch der Entstehungsort des Kreislaufhormons sein muß. Dabei gingen wir einen anderen Weg, als er sonst für die Feststellung eines Hormons üblich war. Bisher wies man nach Ausschaltung der Ursprungsstätte nicht den direkten Wegfall des Hormons nach, sondern man stellte sekundäre Ausfallerscheinungen fest. Wir dagegen konnten nach Ausschaltung des Quellgebietes einen direkten Nachweis für die Herkunft des Kallikrein gewinnen.

Es hatte sich nämlich gezeigt, daß einer vermehrten Kallikrein-Zufuhr zum Blut, z. B. durch Infusion, auch eine gesteigerte Ausscheidung im Harn entspricht. Es mußten sich also durch chirurgische Eingriffe erzwungene Verschiebungen im Kallikrein-Haushalt stets in dem jeweiligen Hormongehalt des Harns widerspiegeln. Wir exstirpierten einer Reihe von Hunden die Bauchspeicheldrüse und fanden, daß die Kallikrein-Konzentration im Urin spontan bis auf 15—30 % abfiel. Noch deutlicher zeigte sich die Abhängigkeit von der Funktion des Pankreas in folgendem Versuch: Sämtliche die Bauchspeicheldrüse ernährenden Gefäße werden vorübergehend abgeklemmt, während der Kallikrein-Gehalt des Harns in regelmäßigen Abständen geprüft wird. Nach zweistündiger Abklemmung sinkt die im Harn ausgeschiedene Menge auf etwa ein Drittel, nach Freigabe der Durchströmung des Organs steigt sie rasch wieder bis über den Ausgangswert. — Läßt man aber im Gegenversuch die innere

Sekretion des Pankreas unversehrt und leitet nur das äußere Sekret durch Anlegen einer Pankreasfistel nach außen ab, so wird die Ausscheidung im Harn nicht geringer. Auch bei Ausschaltung anderer Drüsen wie Nebennieren, Hypophyse, Schilddrüse und Nebenschilddrüse läßt sich ein Einfluß auf den Kallikrein-Spiegel nicht feststellen. Lediglich die Milz scheint in die funktionellen Zusammenhänge in gewisser Weise einzugreifen, ohne daß sie selbst als Produktions- oder Speicherungsstätte in Frage kommt. Auch zum Insulin, von dem das Kallikrein chemisch und pharmakologisch klar abzugrenzen ist, und zum Kohlenhydratstoffwechsel ergaben sich interessante Beziehungen, die aber bis heute noch nicht befriedigend geklärt werden konnten.

Diese Beobachtungen können wohl nur so gedeutet werden, daß das Kallikrein als inneres Sekret der Bauchspeicheldrüse in die Bluthahn abgegehen wird. Aus diesem Grunde gaben wir dem neuen Hormon den wissenschaftlichen Namen „Kallikrein“, der sich von dem Wort „Kallikreas“ ableitet, das bei Hippokrates neben „Pankreas“ als Bezeichnung der Bauchspeicheldrüse gebraucht wird.

Im ganzen gesehen ergibt sich für den Ablauf des physiologischen Geschehens also folgendes Bild: Zur Wirkung gelangt das Kallikrein, wenn es in aktiver, freier Form im Blute kreist. Seine Menge wird reguliert entweder durch vermehrte Ausscheidung aus der Bauchspeicheldrüse oder durch Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration im Blute, d. h. Verschiebung des Gleichgewichtes Kallikrein—Inaktivator. Eine Aufhebung der Hormonwirkung kann ebenfalls auf doppeltem Wege erfolgen: Durch Verschiebung des pH nach der alkalischen Seite, d. h. Inaktivierung von freiem Kallikrein, oder infolge Ausscheidung durch die Niere.

Wenn es möglich war, in diese Zusammenhänge einiges Licht zu bringen und damit auch therapeutisch neue Gesichtspunkte zu gewinnen, so lag die Voraussetzung dafür in einer engen Gemeinschaft der Arbeit zwischen Kliniker und Chemiker.

Die Wirkstoffe in der Bauchspeicheldrüse

DR. W. LUDWIG

Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der I. O. Farbenindustrie AG.,
Werk Hoechst

1. Die Enzyme der Bauchspeicheldrüse

Die Kenntnis der wirksamen Stoffe in der Bauchspeicheldrüse hat sich in den letzten Jahren außerordentlich erweitert. Die Untersuchungen der darin vorhandenen Enzyme haben teils durch neue Untersuchungs- und Prüfungsmethoden, teils aber auch dadurch neuen Impuls erfahren, daß nachgewiesen werden konnte, daß man in den früher vermeintlich reinen Enzymen in Wirklichkeit enzymatische Systeme vor sich hat.

Willstätter und seine Mitarbeiter haben die Trennung der drei Enzyme der Bauchspeicheldrüse, Trypsin, Amylase und Lipase schon 1923 durchgeführt. Die Trennung dieser Enzyme durch fraktionierte Adsorption geschah auf Grund von Unterschieden in ihrem sauren und basischen Charakter. Trypsin zeigt die stärksten basischen, Lipase die stärksten sauren Eigenschaften, während der Amylase es an einem ausgesprochenen sauren oder alkalischen Charakter fehlt. Die Abtrennung der Lipase aus den ursprünglichen Enzymgemischen wurde bei saurer Reaktion mit dem elektropositiven Adsorbens Tonerde, die Abtrennung des Trypsins aus dem verbleibenden Gemisch mit Amylase durch Adsorption mit dem elektronegativen Kaolin, ebenfalls bei saurer Extraktion, durchgeführt. Lipase und Trypsin erhält man dann durch alkalische Elution ihrer Adsorbate, die Amylase in den Mutterlaugen der Kaolinadsorption frei von den anderen Enzymen.

Während hier also eine Trennung der verschiedenen enzymatischen Gruppen der Bauchspeicheldrüse durchgeführt wurde, konnte *Waldschmidt-Leitz* eine weitere Aufteilung der proteolytischen Gruppe selbst erreichen, und es stellte sich heraus, daß die Proteasen der Bauchspeicheldrüse mindestens aus sechs verschiedenen proteolytischen Enzymen bestehen:

Proteinase (Trypsin) und Protaminase, zu den Tryptasen gehörig, und vier Peptidasen: Carboxypolypeptidase, Aminopolypeptidase, Dipeptidase und Prolinase.

Die Drüse bildet und enthält außerdem den natürlichen Aktivator, die Enterokinase, die jedoch durch Autolyse der Drüse erst in den fertigen Aktivator umgewandelt wird.

Das nach diesen Adsorptionsmethoden verbleibende Gemisch von Proteinase und Protaminase ist in der letzten Zeit durch die Amerikaner *Northrop* und Mitarbeiter weiter aufgelöst worden. Sie erhielten durch fraktionierte Ammonsulfatfällungen ein kristallines Protein, das sehr wahrscheinlich identisch mit der Proteinase, dem Trypsin, ist. Die Hydrolyse von Protein durch das kristalline Enzym ist weniger tiefgreifend als die Einwirkung von Trypsin-Kinase-Präparaten nach *Waldschmidt-Leitz*. Das von *Northrop* und Mitarbeitern erhaltene kristalline Protein greift lediglich Proteine und Peptone an, hat konstante physikalische und chemische Eigenschaften und konstante proteolytische Aktivität. Die Substanz kann ohne Veränderung mehrfach umkristallisiert werden und zeigt eine auffallende Stabilität gegen höhere Temperatur in saurer Lösung. Letztere Eigenschaften führten zu einem neuen Verfahren, zur Isolierung des Enzyms.

Man geht hierbei von wässrigen Extrakten oder Preßsäften auftauender Bauchspeicheldrüsen aus. Die Hauptmenge unspezifischer Eiweißkörper wird durch Fällung mit starker Säure entfernt. Das Filtrat wird mit Ammonsulfat fraktioniert, in verdünnter Säure gelöst, auf 80° erhitzt und mit Ammonsulfat weiter gereinigt.

Eingehende Prüfungen der proteolytischen Aktivität des kristallinen Proteins nach verschiedenen Methoden sowie Untersuchungen auf die Anwesenheit der anderen Enzyme der Bauchspeicheldrüse ergeben, daß, während in den letzten Fraktionen die proteolytische Wirksamkeit annähernd konstant bleibt, weder Erepsin noch Amylase und Lipase vorhanden sind. Die

Die Wirkstoffe in der Bauchspeicheldrüse

DR. W. LUNWIG

Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der I. O. Farbenindustrie A.G.,
Werk Hoechst

1. Die Enzyme der Bauchspeicheldrüse

Die Kenntnis der wirksamen Stoffe in der Bauchspeicheldrüse hat sich in den letzten Jahren außerordentlich erweitert. Die Untersuchungen der darin vorhandenen Enzyme haben teils durch neue Untersuchungs- und Prüfungsmethoden, teils aber auch dadurch neuen Impuls erfahren, daß nachgewiesen werden konnte, daß man in den früher vermeintlich reinen Enzymen in Wirklichkeit enzymatische Systeme vor sich hat.

Willstätter und seine Mitarbeiter haben die Trennung der drei Enzyme der Bauchspeicheldrüse, Trypsin, Amylase und Lipase schon 1923 durchgeführt. Die Trennung dieser Enzyme durch fraktionierte Adsorption geschah auf Grund von Unterschieden in ihrem sauren und basischen Charakter. Trypsin zeigt die stärksten basischen, Lipase die stärksten sauren Eigenschaften, während der Amylase es an einem ausgesprochenen sauren oder alkalischen Charakter fehlt. Die Abtrennung der Lipase aus den ursprünglichen Enzymgemischen wurde bei saurer Reaktion mit dem elektropositiven Adsorbens Tonerde, die Abtrennung des Trypsins aus dem verbleibenden Gemisch mit Amylase durch Adsorption mit dem elektronegativen Kaolin, ebenfalls bei saurer Extraktion, durchgeführt. Lipase und Trypsin erhält man dann durch alkalische Elution ihrer Adsorbate, die Amylase in den Mutterlaugen der Kaolinadsorption frei von den anderen Enzymen.

Während hier also eine Trennung der verschiedenen enzymatischen Gruppen der Bauchspeicheldrüse durchgeführt wurde, konnte *Waldschmidt-Leitz* eine weitere Aufteilung der proteolytischen Gruppe selbst erreichen, und es stellte sich heraus, daß die Proteasen der Bauchspeicheldrüse mindestens aus sechs verschiedenen proteolytischen Enzymen bestehen:

Proteinase (Trypsin) und Protaminase, zu den Tryptasen gehörig, und vier Peptidasen: Carboxypolypeptidase, Aminopolypeptidase, Dipeptidase und Prolinase.

Die Drüse bildet und enthält außerdem den natürlichen Aktivator, die Enterokinase, die jedoch durch Autolyse der Drüse erst in den fertigen Aktivator umgewandelt wird.

Das nach diesen Adsorptionsmethoden verbleibende Gemisch von Proteinase und Protaminase ist in der letzten Zeit durch die Amerikaner *Northrop* und Mitarbeiter weiter aufgelöst worden. Sie erhielten durch fraktionierte Ammonsulfatfällungen ein kristallines Protein, das sehr wahrscheinlich identisch mit der Proteinase, dem Trypsin, ist. Die Hydrolyse von Protein durch das kristalline Enzym ist weniger tiefgreifend als die Einwirkung von Trypsin-Kinase-Präparaten nach *Waldschmidt-Leitz*. Das von *Northrop* und Mitarbeitern erhaltene kristalline Protein greift lediglich Proteine und Peptone an, hat konstante physikalische und chemische Eigenschaften und konstante proteolytische Aktivität. Die Substanz kann ohne Veränderung mehrfach umkristallisiert werden und zeigt eine auffallende Stabilität gegen höhere Temperatur in saurer Lösung. Letztere Eigenschaften führten zu einem neuen Verfahren, zur Isolierung des Enzyms.

Man geht hierbei von wässrigen Extrakten oder Preßsäften auftauender Bauchspeicheldrüsen aus. Die Hauptmenge unspezifischer Eiweißkörper wird durch Fällung mit starker Säure entfernt. Das Filtrat wird mit Ammonsulfat fraktioniert, in verdünnter Säure gelöst, auf 80° erhitzt und mit Ammonsulfat weiter gereinigt.

Eingehende Prüfungen der proteolytischen Aktivität des kristallinen Proteins nach verschiedenen Methoden sowie Untersuchungen auf die Anwesenheit der anderen Enzyme der Bauchspeicheldrüse ergeben, daß, während in den letzten Fraktionen die proteolytische Wirksamkeit annähernd konstant bleibt, weder Erepsin noch Amylase und Lipase vorhanden sind. Die

gesamten Fraktionierungsversuche ergeben, daß in dem kristallisierten Trypsin kein Substanzgemisch vorliegt und daß die Substanz kein Adsorptionsgemisch darstellt. Bis auf die Möglichkeit, daß es sich bei der Substanz um die feste Lösung zweier Stoffe handelt, muß das Präparat als einheitlich angesehen werden.

Die Inaktivierung der tryptischen Enzyme durch längeres Lagern der frischen Drüsen kann nach neueren Verfahren durch Zusätze von Verbindungen mit zweiwertigem Schwefel wieder rückgängig gemacht werden. So kann z. B. durch Zusatz von Natriumbiosulfat oder thioglykolsanrem Natrium eine Wiederbelebung der Enzyme fast bis zur Stärke der frischen Drüsen erreicht werden.

Der Trennungsgang der Amylase auf Grund der Adsorptionsmethode von Willstätter und Mitarbeiter ist bereits angeführt. Die weitere Reinigung der Amylase zeigt, daß man hierbei zu Substanzen kommt, die nur noch geringe Reaktionen von Proteinen und deren Abbauprodukten geben. Diese Ergebnisse sind allerdings von *Sherman, Caldwell* und *Adams* angegriffen worden, die behaupten, daß es auch unter Anwendung der Adsorptionsmethode nicht gelingt, zu eiweißfreien Amylasepräparaten der Bauchspeicheldrüse zu gelangen. Sie teilen 1931 Versuche mit, die aus gepufferten alkoholisch-wässrigen Lösungen nach Reinigung mit ihren älteren Adsorptionsmethoden zu kristallisierten Amylasepräparaten führen, gehen aber auf die chemischen Eigenschaften dieser kristallisierten Substanz vorerst nicht näher ein.

Demgegenüber haben *Waldschmidt-Leitz* und Mitarbeiter neuerdings die Frage nach der Eiweißnatur der Amylase mit neuen Methoden in Angriff genommen. Ihre Versuche ergeben, daß sie Amylasepräparate (durch Adsorption mit Tonerde und mit Kaolin von den begleitenden Enzymen der Pankreasauszüge getrennt, durch anschließende Behandlung mit Tonerde und Eisenhydroxyd von Begleitstoffen befreit und mit Aceton gefällt)

soweit gereinigt haben, daß die Präparate keine der üblichen Eiweißreaktionen, auch nicht mehr spurenweise, gehen.

Ob die Differenz in den Angaben der beiden Forscher auf einer verschiedenen Adsorptionsvorreinigung beruht, müssen weitere Untersuchungen aufklären.

Wenn höhere Fettsäuren und Glycerine die Ester und Reaktionskomponenten bilden, so nennt man die Enzyme, die die Esterifizierungen und Hydrolysen dieser Esterkomponente katalysieren, Lipasen. Wenn niedere Fettsäuren die Reaktionskomponenten bilden, so spricht man bei enzymatischer Katalyse von einer Esterasewirkung. Nach dieser Klassifizierung müßten wir bei dem wirksamen Präparat der Bauchspeicheldrüse zwei Enzyme, eine Lipase und eine Esterase, annehmen. Neuere Arbeiten scheinen jedoch zu bestätigen, daß in der Lipase der Bauchspeicheldrüse nur ein Enzym vorliegt, daß Lipase und Esterase dieser Drüse identisch sind. Indessen ist es sehr wahrscheinlich, daß die Lipasen aus verschiedenen Organen, wie Bauchspeicheldrüsen- und Leberlipasen, in dem heutigen Reinheitsgrad nicht identisch sind. Allerdings ist ein weiterer Umstand zu berücksichtigen: Unterschiedlicher Ernährungszustand bedingt unterschiedliche Wirkung.

Die reine Lipase der Bauchspeicheldrüse ist klar löslich in Wasser und gibt nur noch sehr geringe, teils keine Proteinreaktionen mehr. Ebenso negativ ist die Kohlenhydratreaktion. Der Stickstoffgehalt beträgt etwa 10 %. Durch Adsorptions- und Elutionsverfahren weitgehend von Begleitstoffen befreite Lipasepräparate sind sehr labil. Die japanischen Forscher *Gyotoku* und *Terashima* wollen aus Lipase durch Chininzusatz zwei für sich unwirksame bzw. sehr schwach wirksame Fraktionen gewonnen haben, die bei Wiedervereinigung eine starke Lipasewirkung entfalten. Die Verfasser glauben in der einen Substanz die reine Lipase, in der anderen Substanz eine Art Aktivator isoliert zu haben. Genauere Angaben über diese Produkte sind bis jetzt nicht mitgeteilt worden.

2. Hormone der Bauchspeicheldrüse.

Während die ersten Arbeiten über die Enzyme der Bauchspeicheldrüse aus der Mitte des vorigen Jahrhunderts stammen (*Kühnes* Laboratorium 1862), begannen die Arbeiten über die inneren Sekrete der Bauchspeicheldrüse wesentlich später und erfuhren einen neuen energischen Antrieb, als es im Jahre 1922 *Banting* und *Best* erstmals gelang, die schon vorher bekannte blutzuckersenkende Substanz der Bauchspeicheldrüse, die sie Insulin nannten und die in den *Langerhansschen* Inseln ihren Ursprung hat, in eine haltbare und verwendungsfähige Form zu bringen.

Die ersten Jahre nach dieser Entdeckung dienten hauptsächlich dazu, die Ausbeuten aus den Drüsen und den Reinheitsgrad des Insulins zu steigern. Hierbei war außerordentlich wichtig, die Drüsen gleichmäßig frisch zu erhalten, rasch die in der Drüse weitergehenden enzymatischen Prozesse, besonders die das Insulin rasch zerstörenden proteolytischen Enzyme durch Säuren zu unterbrechen. Es konnte neuerdings festgestellt werden, daß binnen einigen Stunden die Ausbeute an Insulin auf etwa 20 % des in der Drüse vorhandenen Insulins zurückgehen kann. (Von etwa 3500 Standard-Einheiten auf etwa 700 Einheiten pro Kilogramm frische Bauchspeicheldrüse vom Rind.)

Im Jahre 1926 gelang es *J. J. Abel*, das Insulin als ein Protein in kristalliner Form zu erhalten. Damit war ein wichtiger Abschnitt erreicht, denn nunmehr konnten auch chemische Arbeiten beginnen, da eine konstante Zusammensetzung und blutzuckersenkende Wirkung (1 mg = 24 Stand.-Einheiten) des Ausgangsmaterials gegeben war. Diese Untersuchungen, besonders die von *Freudenberg* und Mitarbeitern und *Jensen* und Mitarbeitern hatten zur Folge, daß Insulin heute einer der am besten untersuchten Eiweißkörper ist.

Bei der Aufspaltung des Insulins wurden etwa 12 % Tyrosin, 8—12 % Cystin und außerdem Histidin, Arginin, Leucin und Lysin mit Sicherheit festgestellt. Nicht anwesend war Tryptophan. Von *Jensen* ist neuerdings auch Glutaminsäure als Hydrolysespaltprodukt gefunden worden. Eine für Insulin charakteristische

Substanz wurde nicht gefunden. Lediglich der verhältnismäßig hohe Schwefelgehalt von 3,2% ist bemerkenswert. Von großer Wichtigkeit sind die Untersuchungen, ob die blutzuckersenkende Wirkung einer Funktion des gesamten Moleküls oder einer bestimmten Gruppierung innerhalb des Moleküls zukommt. Nach den letzten Untersuchungen ist die Wahrscheinlichkeit gegeben, daß die blutzuckersenkende Komponente des Insulins von einem Körper mit peptidartig gebundenen Aminosäuren herührt. Allem Anschein nach besteht das Molekül des kristallinen Insulins aus verhältnismäßig wenigen Aminosäuren. Weder durch alkalische noch durch saure Hydrolyse ist es gelungen, zu einem Produkt zu kommen, das im Milligramm wirksamer wäre als das kristalline Insulin. Es wurde lediglich festgestellt, daß eine Verbindung zwischen Inaktivierung und der Menge des dabei abgegebenen Ammoniaks besteht. Versuche von *Dingemans*, die angeblich zu wirksameren Präparaten als kristallinem Insulin führten, konnten von verschiedenen Nacharbeitern nicht bestätigt werden.

Was die Rolle des Schwefels im Insulinmolekül betrifft, so konnte ein eindeutiger Beweis über seine Notwendigkeit in der aktiven Gruppe bis jetzt nicht erbracht werden. *Freudenberg* und Mitarbeiter haben gezeigt, daß die Geschwindigkeit der Inaktivierung des Insulins mit Alkali nicht mit der Abspaltung des Schwefels parallel geht. *Jensen* und seine Schule dagegen sind der Ansicht, daß der Schwefel, eventuell nur ein Teil desselben, an der physiologischen Wirkung des Insulins beteiligt ist. *Jensen* spricht von der Möglichkeit, daß peptidartige Körper aus Cystin und Glutaminsäure an der wirksamen Gruppe des Insulins beteiligt sind. Seine Versuche dehnen sich zur Zeit auf die Prüfung einer großen Reihe von Cystinpeptiden aus.

Neben dem Insulin sind in den letzten Jahren in der Bauchspeicheldrüse noch eine Reihe anderer Hormone gefunden worden, die die wichtige Stellung dieser endokrinen Drüse für den gesamten Organismus zeigen. So haben *Santenose* und Mitarbeiter ein Hormon, das sie Vagotonin nennen, isoliert und

2. Hormone der Bauchspeicheldrüse.

Während die ersten Arbeiten über die Enzyme der Bauchspeicheldrüse aus der Mitte des vorigen Jahrhunderts stammen (*Kühnes* Laboratorium 1862), begannen die Arbeiten über die inneren Sekrete der Bauchspeicheldrüse wesentlich später und erfuhren einen neuen energischen Antrieb, als es im Jahre 1922 *Banting* und *Best* erstmals gelang, die schon vorher bekannte blutzuckersenkende Substanz der Bauchspeicheldrüse, die sie *Insulin* nannten und die in den *Langerhansschen* Inseln ihren Ursprung hat, in eine haltbare und verwendungsfähige Form zu bringen.

Die ersten Jahre nach dieser Entdeckung dienten hauptsächlich dazu, die Ausbeuten aus den Drüsen und den Reinheitsgrad des *Insulins* zu steigern. Hierbei war außerordentlich wichtig, die Drüsen gleichmäßig frisch zu erhalten, rasch die in der Drüse weitergehenden enzymatischen Prozesse, besonders die das *Insulin* rasch zerstörenden proteolytischen Enzyme durch Säuren zu unterbrechen. Es konnte neuerdings festgestellt werden, daß binnen einigen Stunden die Ausbeute an *Insulin* auf etwa 20 % des in der Drüse vorhandenen *Insulins* zurückgehen kann. (Von etwa 3500 Standard-Einheiten auf etwa 700 Einheiten pro Kilogramm frische Bauchspeicheldrüse vom Rind.)

Im Jahre 1926 gelang es *J. J. Abel*, das *Insulin* als ein Protein in kristalliner Form zu erhalten. Damit war ein wichtiger Abschnitt erreicht, denn nunmehr konnten auch chemische Arbeiten beginnen, da eine konstante Zusammensetzung und blutzuckersenkende Wirkung (1 mg = 24 Stand.-Einheiten) des Ausgangsmaterials gegeben war. Diese Untersuchungen, besonders die von *Freudenberg* und Mitarbeitern und *Jensen* und Mitarbeitern hatten zur Folge, daß *Insulin* heute einer der am besten untersuchten Eiweißkörper ist.

Bei der Aufspaltung des *Insulins* wurden etwa 12 % Tyrosin, 8—12 % Cystin und außerdem Histidin, Arginin, Leucin und Lysin mit Sicherheit festgestellt. Nicht anwesend war Tryptophan. Von *Jensen* ist neuerdings auch Glutaminsäure als Hydrolysespaltprodukt gefunden worden. Eine für *Insulin* charakteristische

Substanz wurde nicht gefumlen. Lediglich der verhältnismäßig hohe Schwefelgehalt von 3,2% ist bemerkenswert. Von großer Wichtigkeit sind die Untersuchungen, ob die blutzuckersenkende Wirkung einer Funktion des gesamten Moleküls oder einer bestimmten Gruppierung innerhalb des Moleküls zukommt. Nach den letzten Untersuchungen ist die Wahrscheinlichkeit gegeben, daß die blutzuckersenkende Komponente des Insulins von einem Körper mit peptidartig gebundenen Aminosäuren herührt. Allem Ansehen nach besteht das Molekül des kristallinen Insulins aus verhältnismäßig wenigen Aminosäuren. Weder durch alkalische noch durch saure Hydrolyse ist es gelungen, zu einem Produkt zu kommen, das im Milligramm wirksamer wäre als das kristalline Insulin. Es wurde lediglich festgestellt, daß eine Verbindung zwischen Inaktivierung und der Menge des dabei abgegebenen Ammoniaks besteht. Versuche von *Dingemans*, die angeblich zu wirksameren Präparaten als kristallinem Insulin führten, konnten von verschiedenen Nacharbeitern nicht bestätigt werden.

Was die Rolle des Schwefels im Insulinmolekül betrifft, so konnte ein eindeutiger Beweis über seine Notwendigkeit in der aktiven Gruppe bis jetzt nicht erbracht werden. *Freudenberg* und Mitarbeiter haben gezeigt, daß die Geschwindigkeit der Inaktivierung des Insulins mit Alkali nicht mit der Abspaltung des Schwefels parallel geht. *Jensen* und seine Schule dagegen sind der Ansicht, daß der Schwefel, eventuell nur ein Teil desselben, an der physiologischen Wirkung des Insulins beteiligt ist. *Jensen* spricht von der Möglichkeit, daß peptidartige Körper aus Cystin und Glutaminsäure an der wirksamen Gruppe des Insulins beteiligt sind. Seine Versuche dehnen sich zur Zeit auf die Prüfung einer großen Reihe von Cystinpeptiden aus.

Neben dem Insulin sind in den letzten Jahren in der Bauchspeicheldrüse noch eine Reihe anderer Hormone gefunden worden, die die wichtige Stellung dieser endokrinen Drüse für den gesamten Organismus zeigen. So haben *Santennoise* und Mitarbeiter ein Hormon, das sie Vagotonin nennen, isoliert und

weitgehend gereinigt. Vagotonin scheint vor allem auf die parasympatischen Zentren zu wirken. Es verursacht keine unmittelbare Blutdrucksenkung und besitzt eine hypoglykämische Komponente, die nach Angabe der Verfasser nicht von eventuell anhaftendem Insulin herrührt. Die Hypoglykämie nach Vagotonin ist bedeutend geringer als bei Insulin, jedoch von längerer Wirkung, so daß eventuell bei Kombination von Insulin mit Vagotonin eine gleiche blutzuckersenkende Wirkung mit geringeren Insulindosen oder bei gleichbleibender Insulindosis eine länger anhaltende blutzuckersenkende Wirkung erreicht werden kann. Die bis jetzt vorhandenen klinischen Versuche lassen noch kein Urteil zu, ob die Kombination von Vagotonin mit Insulin eine Insulineinsparung ermöglicht. Die Reinigung von Vagotonin geschieht durch Behandlung des wässerigen alkoholischen Extraktes mit Chloroform, wobei das Insulin zum größten Teil abgetrennt wird. Die Substanz wird durch Dialysieren und fraktionierte Fällung mit Lithiumchlorid über ihr Pikrat gereinigt. Hierbei werden die letzten Spuren von mitgeschlepptem Insulin beseitigt.

Über eine der Thyroxinvergiftung entgegenwirkende Substanz aus der Bauchspeicheldrüse wurde von *Bälo, Bach* und Mitarbeitern berichtet. Es ist schon lange der Antagonismus zwischen Schilddrüse und Pankreas bekannt, der sich durch Störungen der inneren Sekretion der Schilddrüse feststellen läßt. Nachdem Insulin und Thyroxin bekannt waren, wurden Versuche zum Beweis dieses Antagonismus angestellt. Die Versuche der obigen Autoren ließen jedoch bald erkennen, daß nicht Insulin, sondern ein anderer Körper aus der Bauchspeicheldrüse der Antagonist des Thyroxins sein muß. Thyroxin verursacht:

1. eine Abnahme der Serumlipase,
2. einen Gewichtsabfall,

die beide die neu gefundene Substanz verhindern soll.

Die wirksame Substanz kann nach kurzer Entfettung frischer Bauchspeicheldrüsen vom Schwein mit anschließender Trocknung erhalten werden. Die Fermente werden durch Sterilisation zerstört

und durch anschließende Extraktion in wässriger Lösung erhalten. Der Extrakt ist schwach gelb gefärbt, eiweißfrei und gut verträglich. Er veranlaßt einen kleinen Blutzuckeranstieg und schließt somit das Vorhandensein von Insulin aus. Auch kann man mit Insulin eine Thyroxinvergiftung nicht beeinflussen. Auffallend ist die große Empfindlichkeit der wirksamen Substanz gegen Aceton.

Mit Insulin, Vagotonin und dem Thyroxin entgegenwirkenden Stoff ist aber die Zahl der in der Bauchspeicheldrüse vorhandenen Wirkstoffe nicht erschöpft.

Das von *Frey* und *Kraut* im Jahre 1926 im Harn gefundene Kreislaufhormon hat, wie die späteren Arbeiten der genannten Autoren aus dem Jahre 1930 ergaben, seinen Ursprung ebenfalls in der Bauchspeicheldrüse. Dieses Kreislaufhormon, zuerst Kallikrein, später Padutin genannt, soll hier nur erwähnt, an anderer Stelle ausführlich behandelt werden.

Außerdem kennen wir noch Wirkungen der Bauchspeicheldrüse, die, soweit die derzeitigen Untersuchungen erkennen lassen, wahrscheinlich nicht mit einem der bisher genannten Stoffe identisch sind. Die schon kurz erwähnte Substanz, die Blutzuckersteigerung hervorruft, ist verschiedentlich beobachtet und auch angereichert worden. Damit können Blutzuckersteigerungen von 100 % und mehr an Kaninchen erreicht werden. Ob diese Substanz mit der bei unreinen Insulinpräparaten beobachteten, die initiale Hyperglykämie verursachenden Substanz, identisch ist, muß noch untersucht werden.

Untersuchungen von verschiedenen Autoren (*Macleod* u. a.) zeigen, daß pankreasexstirpierte Tiere mit Insulin allein nicht am Leben gehalten werden können. Fütterung mit frischen Bauchspeicheldrüsen verlängert das Leben der Versuchstiere (Hunde) auf ein Jahr und länger. Für diese Lebensverlängerung wurden einmal die in der Bauchspeicheldrüse vorhandenen Enzyme, andererseits die Lipide in Zusammenhang gebracht. Nach neueren Arbeiten glaubt man, daß wahrscheinlich die Lipide der Bauchspeicheldrüse daran beteiligt sind.

zwar zuerst auch zurück, begannen aber nach einiger Zeit spontan zu wachsen, bis sie sich nach einem Jahr zu richtigen Hahnenkämmen entwickelt hatten. Bei der Autopsie stellte sich heraus, daß alle Tiere der ersten Gruppe Hoden unter 0,4 g Gewicht hatten, während alle zu Hähnen entwickelten Tiere Hodengewichte über 0,4 g bis zu 40 g aufwiesen. Daraus schloß *Pécard*, daß zur Entwicklung der sekundären Geschlechtsmerkmale eine bestimmte, minimale Menge Hoden nötig sei. Werde dieses Hodengewicht nicht erreicht, dann trete kein Kammwachstum auf, werde dieses Gewicht jedoch überschritten, so komme es, gleichgültig, wie groß dann das Gewicht des Hodens sei, stets zur vollständigen Ausbildung aller sekundären Geschlechtsmerkmale. Einen neutralen Punkt gebe es nicht. Es bestehe somit keine Proportionalität zwischen Hodengewicht und Kammgröße.

Bevor auf die Einwände einzugehen ist, die gegen das „Alles oder Nichts-Gesetz“ vorgebracht wurden, sei hier eine Beobachtung wiedergegeben, die an jungen Hähnen gemacht wurde, die für die laufende Standardisierung unseres Handelspräparates „Erugon“ kastriert worden waren. Mit wenigen Ausnahmen bekam die Mehrzahl aller dieser Tiere bald nach der Kastration Kapaunenkämme. Es wurden nun diese Tiere einige Wochen lang daraufhin beobachtet, ob ihre Kämme gleichmäßig klein blieben; alsdann wurden sie für die Standardisierung geeicht. Zu diesem Zweck wurde jedem von ihnen 5 Tage hintereinander je 1 Einheit eines bereits gut ausgewerteten Präparates des männlichen Sexualhormons injiziert, wobei am 7. Tage ein Kammwachstum von etwa 30 % eingetreten sein mußte. Die Bestimmung erfolgte in bekannter Weise durch Photographie und Planimetrie der Kämme. Nach weiteren Wochen wurden neue Kambilder angelegt zur Feststellung, ob sich die Kämme wieder zurückgebildet hatten. Hierbei fiel nun bei einigen Hähnen auf, daß nicht nur kein Rückgang, sondern noch eine Vergrößerung der Kämme gegenüber den Maßen nach Abschluß der Injektionen eingetreten war und daß diese Vergrößerung von

Ein Beitrag zum Wirkungsmechanismus des männlichen Sexualhormons

DR. MED., DR. PHIL. NAT. RUDOLF FUSSGÄNGER
Aus dem Pharmakologischen Institut der I. O. Farbenindustrie AG.,
Werk Hoechst

Wenn im folgenden über einige Beobachtungen mit dem männlichen Sexualhormon berichtet wird, so muß zunächst die Einschränkung gemacht werden, daß unter „männlichem Sexualhormon“ in diesem Falle das einzige bisher sicher isolierte Hormon der männlichen Keimdrüse verstanden werden soll, das vorzugsweise an den sekundären Geschlechtsmerkmalen des kastrierten Hahnes seine Wirkung entfaltet. Bekanntlich liegen seit einiger Zeit Veröffentlichungen vor, nach denen, analog zur weiblichen Keimdrüse, auch die männliche Keimdrüse mindestens zwei Hormone produziere (*Champy, Freud, Martins, Loeve, McCullagh*), doch ist bisher ein exakter Nachweis eines solchen zweiten Hormons noch nicht gelungen.

Der erste, der an dem auch heute noch bestgeeigneten Testobjekt für das männliche Sexualhormon, dem Hahnenkamm, umfangreiche Untersuchungen angestellt hat, war *Pézard*¹⁾, der im Verlauf zahlreicher Arbeiten nach Kastration und Transplantation von Hodengewebe zur Aufstellung von Gesetzmäßigkeiten gelangte, die unter dem Namen des „Alles oder Nichts-Gesetzes“ und des Gesetzes der „Differentialschwellen“ bekannt und auch umstritten wurden.

Exstirpierte *Pézard* 3—4 Monate alten Hähnen die Hoden α, daß von einem Hoden nur kleine Reste übrigblieben, so entfalteten sich die Kämme dieser „Teilkastraten“ in zwei verschiedenen Richtungen. Die eine Gruppe von Hähnen nahm die Hahnenkämme an und verblieb noch nach einem Jahr in dem Zustand, die Kämme der zweiten Gruppe bildeten sich

Bauc_____

erhalten *Pézard*, Übersicht in „Ergebnisse der Physiologie“. Bd. 27, S. 552, 1928.

Wie die ebengenannten Amsterdamer Forscher kamen auch andere auf Grund von Beobachtungen mit verschiedenem Tiermaterial zur Ablehnung des „Alles oder Nichts-Gesetzes“ (Aron, Ancel und Bouin, B  no  t, Loewe, Steinach u. a.). Das Gesetz scheint aber wohl sicher seine Gültigkeit für die Versuche von Pézard zu behalten, nur stellen die Beobachtungen, die er an seinen Tieren gemacht hat, eine Resultante dar aus verschiedenen Vorgängen im Organismus, denn wir wissen heute, daß ein im Körper befindlicher Hodenrest in Korrelation steht zu vielen endokrinen Drüsen, vor allem zum Hypophysenvorderlappen, so daß die Sekretion des so gesteuerten Hodens anderen Gesetzen unterliegt und nach außen anders in Erscheinung treten kann als die Wirkung der Injektion des isolierten männlichen Hormons.

Das zweite Gesetz Pézards, das Gesetz der Differential-schwellen, besagt, daß zur Auslösung verschiedener sekundärer Geschlechtsmerkmale verschiedene Schwellenwerte des männlichen Hormons notwendig sind. Es wurde bisher von den meisten Autoren bestätigt (Aron, B  no  t). Moore und Gallagher¹⁾ fanden bei Ratten einen Unterschied in der Empfindlichkeit der einzelnen Kriterien (Prostatatest, Samenblasentest, Cowpersche Drüsen, Vas deferens). Auch Voss und Loewe²⁾ wiesen auf die verschiedene Empfindlichkeit der Teste hin. So brauchten sie für den zytologischen Test an der Samenblase der Maus viel weniger Hormon als Martins für die Sichtbarmachung der makroskopischen Veränderungen der Samenblase des gleichen Tiermaterials.

Wie sich nun im einzelnen die Reaktionen im Tierkörper abspielen, bis es nach Injektion von männlichem Hormon zur Rötung und Vergrößerung von Kamm und Bartlappen kommt, ist bisher wenig bekannt. Lediglich die strukturellen Verhältnisse am Kamm sind Gegenstand eingehender Untersuchungen

¹⁾ Moore u. Gallagher, Journ. of Pharm. a. Exp. Therap., 40, 341, 1930.

²⁾ H. E. Voss u. S. Loewe, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 159, 532, 1931.

Woche zu Woche weiterschritt und zu richtigen Hahnenkämmen führte. Nochmals: es handelte sich um Tiere, die Wochen und Monate vorher keinerlei Kammwachstum gezeigt hatten. Man wird sich diesen Vorgang nur so erklären können, daß, ganz im Sinne *Pézards*, einzelne Tiere noch gerade soviel Hodenrest behalten hatten, daß die Schwelle von etwa 0,4 g noch nicht ganz erreicht war. Erst die Injektionen von männlichem Hormon haben den ruhenden Hodenrest in irgendeiner Form angeregt, so daß die Schwelle überschritten wurde und es zur vollständigen Ausbildung der männlichen Geschlechtsmerkmale kam. Die Beobachtung ist insofern von Wert, als dadurch gezeigt wurde, daß es mit dem männlichen Hormon gelingt, einen ruhenden Hoden zur Neufunktion anzuregen, eine Tatsache, die eine Erklärung gibt für den therapeutischen Effekt des männlichen Sexualhormons an Keimdrüsen, die in ihrer Funktion bereits herabgesetzt sind.

Als es nun in den letzten Jahren gelungen war, das männliche Hormon anzureichern und zu isolieren, wurde naturgemäß die Frage nach seinem Wirkungsmechanismus von verschiedenen Seiten neu untersucht, wobei sich herausstellte, daß für das isolierte Hormon das „Alles oder Nichts-Gesetz“ keine Gültigkeit mehr zu haben schien, denn die Kammgröße war stets, wenn auch nicht linear, abhängig von der injizierten Menge des Hormons. Das Gesetz steht aber auch im Widerspruch zu einer Beobachtung von *Freud, Laqueur und Pompen*¹⁾, die versuchten, einen Kapaunenkamm zu einem vollständigen Hahnenkamm auszubilden. Sie mußten die injizierten Mengen des männlichen Hormons allmählich so steigern, daß 60 Hahneneinheiten pro Tag — das entspricht 3 kg Stierhoden — nötig waren, um den schrittweise erreichten, vollständigen Aufbau des Kammes aufrechtzuerhalten. Außerdem aber erwies sich eine Dosis um so wirksamer, wenn sie auf mehrere kleine Beträge und kürzere Zeitabschnitte verteilt wurde.

¹⁾ *Freud, Laqueur und Pompen*, Endokrinologie X, 1, 1932.

Wie die ebengenannten Amsterdamer Forscher kamen auch andere auf Grund von Beobachtungen mit verschiedenem Tiermaterial zur Ablehnung des „Alles oder Nichts-Gesetzes“ (Aron, Ancel und Bouin, Bénéoit, Loewe, Steinach u. a.). Das Gesetz scheint aber wohl sicher seine Gültigkeit für die Versuche von Pézard zu behalten, nur stellen die Beobachtungen, die er an seinen Tieren gemacht hat, eine Resultante dar aus verschiedenen Vorgängen im Organismus, denn wir wissen heute, daß ein im Körper befindlicher Hodenrest in Korrelation steht zu vielen endokrinen Drüsen, vor allem zum Hypophysenvorderlappen, so daß die Sekretion des so gesteuerten Hodens anderen Gesetzen unterliegt und nach außen anders in Erscheinung treten kann als die Wirkung der Injektion des isolierten männlichen Hormons.

Das zweite Gesetz Pézards, das Gesetz der Differentialschwelen, besagt, daß zur Auslösung verschiedener sekundärer Geschlechtsmerkmale verschiedene Schwellenwerte des männlichen Hormons notwendig sind. Es wurde bisher von den meisten Autoren bestätigt (Aron, Bénéoit). Moore und Gallagher¹⁾ fanden bei Ratten einen Unterschied in der Empfindlichkeit der einzelnen Kriterien (Prostatatest, Samenblasentest, Cowpersehe Drüsen, Vas deferens). Auch Voss und Loewe²⁾ wiesen auf die verschiedene Empfindlichkeit der Teste hin. So brauchten sie für den zytologischen Test an der Samenblase der Maus viel weniger Hormon als Martins für die Sichtbarmachung der makroskopischen Veränderungen der Samenblase des gleichen Tiermaterials.

Wie sich nun im einzelnen die Reaktionen im Tierkörper abspielen, bis es nach Injektion von männlichem Hormon zur Rötung und Vergrößerung von Kamm und Bartlappen kommt, ist bisher wenig bekannt. Lediglich die strukturellen Verhältnisse am Kamm sind Gegenstand eingehender Untersuchungen

¹⁾ Moore u. Gallagher, Journ. of Pharm. a. Exp. Therap., 40, 341, 1930.

²⁾ H. E. Voss u. S. Loewe, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 159, 532, 1931.

Woche zu Woche weiterschritt und zu richtigen Hahnenkämmen führte. Nochmals: es handelte sich um Tiere, die Wochen und Monate vorher keinerlei Kammwachstum gezeigt hatten. Man wird sich diesen Vorgang nur so erklären können, daß, ganz im Sinne Pézards, einzeln Tiere noch gerade soviel Hodenrest gehalten hatten, daß die Schwelle von etwa 0,4 g noch nicht ganz erreicht war. Erst die Injektionen von männlichem Hormon haben den ruhenden Hodeurest in irgendeiner Form angeregt, so daß die Schwelle überschritten wurde und es zur vollständigen Aushildung der männlichen Geschlechtsmerkmale kam. Die Beobachtung ist insofern von Wert, als dadurch gezeigt wurde, daß es mit dem männlichen Hormon gelingt, einen ruhenden Hoden zur Neufunktion anzuregen, eine Tatsache, die eine Erklärung gibt für den therapeutischen Effekt des männlichen Sexualhormons an Keimdrüsen, die in ihrer Funktion bereits herabgesetzt sind.

Als es nun in den letzten Jahren gelungen war, das männliche Hormon anzureichern und zu isolieren, wurde naturgemäß die Frage nach seinem Wirkungsmechanismus von verschiedenen Seiten neu untersucht, wobei sich herausstellte, daß für das isolierte Hormon das „Alles oder Nichts-Gesetz“ keine Gültigkeit mehr zu haben schien, denn die Kammgröße war stets, wenn auch nicht linear, abhängig von der injizierten Menge des Hormons. Das Gesetz steht aber auch im Widerspruch zu einer Beobachtung von *Freud, Laqueur und Pompen*¹⁾, die versuchten, einen Kapaunenkamm zu einem vollständigen Hahnenkamm auszuformen. Sie mußten die injizierten Mengen des männlichen Hormons allmählich so steigern, daß 60 Hahneneinheiten pro Tag — das entspricht 3 kg Stierhoden — nötig waren, um den schrittweise erreichten, vollständigen Aufbau des Kammes aufrechtzuerhalten. Außerdem aber erwies sich eine Dosis um so wirksamer, wenn sie auf mehrere kleine Beträge und kürzere Zeiteinschnitte verteilt wurde.

¹⁾ *Freud, Laqueur und Pompen, Endokrinologie X, 1, 1932.*

typisch ist. Diese Reaktion erwies sich als spezifisch für das Hodenhormon.

Der Nachteil der Hahnenkammethode ist bekanntlich die große Menge Hormon, die notwendig ist, um das etwa 30 %ige Wachstum der Kämme zu erzeugen; die Hahneneinheit ist daher eine sehr große Einheit. Es wurde deshalb versucht, ob es möglich sei, dieselbe Reaktion mit weniger Material zu erhalten, wenn die Substanz in den Kamm selbst injiziert würde. Da aber hierbei starke Blutungen, Verluste durch Wiederausfließen und unerwünschte Spannungen des Gewebes erzeugt wurden, wurde die gleiche Menge direkt unter den Kamm in das verhältnismäßig lockere Bindegewebe injiziert mit dem Erfolg, daß mit der Menge, die eine Einheit auf Grund der intramuskulären Anwendung darstellte, eine wesentlich größere Wirkung erreicht wurde, so daß schon mit dem 20. Teil der intramuskulären Dosis das gleiche 30 %ige Wachstum erzielt werden konnte. Damit stand fest, daß das Hormon, näher an das Erfolgsorgan gebracht, eine viel intensivere Wirkung ausübt. In der nächsten Versuchsreihe wurden die Injektionen überhaupt vermieden und täglich einmal soviel Substanz mit einem Pinsel auf den Kamm aufgetragen, wie er gerade aufnahm. Hier ist zu ergänzen, daß diese Versuche mit einem Hormonpräparat ausgeführt wurden, das exakt auf 2 Hahneneinheiten im Kubikzentimeter eingestellt war. Nach 5 tagigem Aufpinseln wurde der Kamm am 7. Tag in der üblichen Weise planimetrisch gemessen. Die Kammfläche der drei verwandten Tiere hatte sich im Mittel um 110 % (100 %, 131,6 %, 97,8 %) vermehrt. Offenbar war das Hormon auch perkutan vom Kamm glatt resorbiert worden. Die quantitative Nachprüfung dieser Beobachtung lieferte das überraschende Ergebnis, daß schließlich schon 0,2 cem einer auf das 20fache verdünnten Lösung des Hormons, nach obigem Schema appliziert, ausreichten, das von uns geforderte 30 %ige Wachstum des Kammes hervorzurufen. Somit hatte schon der 50. Teil einer Hahneneinheit bei perkutaner Anwendung die gleiche Wirkung wie eine

gewesen, die vor allem an die Namen von *Champy* und *Kritsch*¹⁾, *M. Hardesty*²⁾, *R. Pick* und *M. Reiss*³⁾ geknüpft sind.

Champy, *Kritsch* und *Hardesty* haben genaue histologische Studien vorgenommen, die sich sowohl auf den Kamm von Hähnen als den von Kapaunen erstrecken. *Hardesty* verglich mit diesen beiden Extremen den Kamm von Kapaunen, die mit männlichem Hormon längere Zeit behandelt worden waren. Charakteristisch für den Kamm des normalen Hahnes und für den des Kapauns, der mit männlichem Hormon behandelt wurde, ist das muco-elastische Gewebe, das um die in der Achse liegenden Gefäße angeordnet ist. Dieses muco-elastische Gewebe ist mit einem schleimähnlichen Körper, dem Mucoid, durchtränkt, das den Kapaunen fehlt. Die Injektion von männlichem Hormon löst nun nach *Hardesty* bei den Kämmen von Kapaunen schon nach kurzer Zeit die Bildung dieses Mucoids aus. Hierdurch schwillt das muco-elastische Gewebe stark an und übt einen Druck auf die dünnwandigen Venen aus, so daß diese zum Teil verlegt werden, während das Blut in die dickwandigen Arterien ungehindert einströmen kann. Die Folge ist eine langsame Blutstauung, die zur Rötung und ihrerseits zur Verdickung des Kammes führt. Gleichzeitig findet eine Dilatation der in den oberflächlichen Schichten verteilten Kapillaren statt. Umgekehrt verschwindet beim Hahn nach der Kastration das Mucoid aus dem elastischen Gewebe, die Blutstauung hört auf, der Kamm wird rasch blaß und klein.

Das Verhalten der Kapillaren des Hahnenkammes untersuchten *Pick* und *Reiss*, die an Hand von Kapillarphotographien feststellten, daß die beim Kapaunenkamm kaum erkennbare Kapillarstruktur sich unter dem Einfluß von Injektionen des männlichen Sexualhormons zu dem klar hervortretenden Kapillarnetz entwickelt, wie es für den erwachsenen Hahn

1) *Champy* und *Kritsch*, *Compt. rend. Soc. Biol.*, 92, 683, 1925 u. a.

2) *M. Hardesty*, *Amer. Journ. of Anatom.*, 47, 277, 1931.

3) *R. Pick* und *M. Reiss*, *Endokrinologie*, 12, 161, 1933.

typisch ist. Diese Reaktion erwies sich als spezifisch für das Hodenhormon.

Der Nachteil der Hahnenkammethode ist bekanntlich die große Menge Hormon, die notwendig ist, um das etwa 30 %ige Wachstum der Kämme zu erzeugen; die Hahneneinheit ist daher eine sehr große Einheit. Es wurde deshalb versucht, ob es möglich sei, dieselbe Reaktion mit weniger Material zu erhalten, wenn die Substanz in den Kamm selbst injiziert wurde. Da aber hierbei starke Blutungen, Verluste durch Wiederausfließen und unerwünschte Spannungen des Gewebes erzeugt wurden, wurde die gleiche Menge direkt unter den Kamm in das verhältnismäßig lockere Bindegewebe injiziert mit dem Erfolg, daß mit der Menge, die eine Einheit auf Grund der intramuskulären Anwendung darstellte, eine wesentlich größere Wirkung erreicht wurde, so daß schon mit dem 20. Teil der intramuskulären Dosis das gleiche 30 %ige Wachstum erzielt werden konnte. Damit stand fest, daß das Hormon, näher an das Erfolgsorgan gebracht, eine viel intensivere Wirkung ausübt. In der nächsten Versuchsreihe wurden die Injektionen überhaupt vermieden und täglich einmal soviel Substanz mit einem Pinsel auf den Kamm aufgetragen, wie er gerade aufnahm. Hier ist zu ergänzen, daß diese Versuche mit einem Hormonpräparat ausgeführt wurden, das exakt auf 2 Hahneneinheiten im Kubikzentimeter eingestellt war. Nach 5 tägigem Aufpinseln wurde der Kamm am 7. Tag in der üblichen Weise planimetrisch gemessen. Die Kammfläche der drei verwandten Tiere hatte sich im Mittel um 110 % (100 %, 131,6 %, 97,8 %) vermehrt. Offenbar war das Hormon auch perkutan vom Kamm glatt resorbiert worden. Die quantitative Nachprüfung dieser Beobachtung lieferte das überraschende Ergebnis, daß schließlich schon 0,2 ccm einer auf das 20fache verdünnten Lösung des Hormons, nach obigem Schema appliziert, ausreichten, das von uns geforderte 30 %ige Wachstum des Kammes hervorzurufen. Somit hatte schon der 50. Teil einer Hahneneinheit bei perkutaner Anwendung die gleiche Wirkung wie eine

gewesen, die vor allem an die Namen von *Champy* und *Kritsch*¹⁾, *M. Hardesty*²⁾, *R. Pick* und *M. Reiss*³⁾ geknüpft sind.

Champy, *Kritsch* und *Hardesty* haben genau histologische Studien vorgenommen, die sich sowohl auf den Kamm von Hähnen als den von Kapaunen erstrecken. *Hardesty* verglich mit diesen beiden Extremen den Kamm von Kapaunen, die mit männlichem Hormon längere Zeit behandelt worden waren. Charakteristisch für den Kamm des normalen Hahnes und für den des Kapauns, der mit männlichem Hormon behandelt wurde, ist das mucos-elastische Gewebe, das um die in der Achse liegenden Gefäße angeordnet ist. Dieses mucos-elastische Gewebe ist mit einem schleimähnlichen Körper, dem Mucoid, durchtränkt, das den Kapaunen fehlt. Die Injektion von männlichem Hormon löst nun nach *Hardesty* bei den Kämmen von Kapaunen schon nach kurzer Zeit die Bildung dieses Mucoids aus. Hierdurch schwillt das mucos-elastische Gewebe stark an und übt einen Druck auf die dünnwandigen Venen aus, so daß diese zum Teil verlegt werden, während das Blut in die dickwandigen Arterien ungehindert einströmen kann. Die Folge ist eine langsame Blutstauung, die zur Rötung und ihrerseits zur Verdickung des Kammes führt. Gleichzeitig findet eine Dilatation vor in den oberflächlichen Schichten verteilten Kapillaren statt. Umgekehrt verschwindet beim Hahn nach der Kastration das Mucoid aus dem elastischen Gewebe, die Blutstauung hört auf, der Kamm wird rasch blaß und klein.

Das Verhalten der Kapillaren des Hahnenkammes untersuchten *Pick* und *Reiss*, die an Hand von Kapillarphotographien feststellten, daß die beim Kapaunenamm kaum erkennbare Kapillarstruktur sich unter dem Einfluß von Injektionen des männlichen Sexualhormons zu dem klar hervortretenden Kapillarnetz entwickelt, wie es für den erwachsenen Hahn

¹⁾ *Champy* und *Kritsch*, *Compt. rend. Soc. Biol.*, 92, 683, 1925 u. a.

²⁾ *M. Hardesty*, *Amer. Journ. of Anatom.*, 47, 277, 1931.

³⁾ *R. Pick* und *M. Reiss*, *Endokrinologie*, 12, 161, 1933.

Nachdem die perkutane Anwendungsmöglichkeit des männlichen Hormons erwiesen war, erhob sich die Frage, ob dieser Effekt auch zu erzielen sein würde, wenn die perkutane Applikation nicht am Erfolgsorgan selbst, dem Kamm mit seinem großen Kapillarnetz, sondern an irgendeiner anderen Stelle der Haut erfolgte. Zu diesem Zweck wurden einige Kapaunen an der Brust unter den Flügeln von den Federn befreit und hier die Einpinselungen mit Hormonlösungen vorgenommen. Zur Anwendung kam ein starkes, in Öl gelöstes Hormonpräparat, das im Kubikzentimeter 7 H.E. enthielt. Nur die konzentrierte Hormonlösung war imstande, ein Wachstum des Kammes von der Rückenhaut aus auszulösen. Lösungen in der Verdünnung, wie sie perkutan am Kamm voll wirksam waren, hlieben an der Rückenhaut wirkungslos. Für ein 30%iges Wachstum war etwa die 3,5fache Menge an der Rückenhaut nötig als bei intramuskulärer Anwendung. Setzt man die bisher angegebenen Zahlen zueinander in Vergleich, so verhalten sich die Mengen des Hormons, die bei gleicher Wirkung an den verschiedenen Applikationsstellen nötig sind, wie folgt:

Rückenhaut	175
Intramuskulär	50
Injektion unter den Kamm	2,5
Perkutan am Kamm selbst	1

Die Diskrepanz zwischen der Resorption vom Rücken und der vom Kamm läßt sich vielleicht so erklären, daß sich die vom Rücken perkutan resorbierte Menge Hormon wohl zunächst im ganzen Organismus verteilt, so daß nur ein kleiner Teil der aufgenommenen Hormonmenge auf dem Blutwege bis zum Kamm gelangt, während das Hormon, am Kamm direkt appliziert, gleich auf das spezifische Gewebe stößt, bevor es in die zentral gelegenen großen Gefäße gelangt und an den übrigen Körper abgegeben wird. Der große Wirkungsunterschied zwischen intramuskulärer und perkutaner Wirksamkeit läßt auch darauf schließen, daß ein großer Teil des Hormons im Organismus

Hahneneinheit, intramuskulär gegeben. Dieser Befund ist in mehrfacher Hinsicht von Bedeutung, zunächst für die Aufklärung der Art, wie das männliche Hormon im Organismus wirkt. Aus der Tatsache der fast 50fachen Wirkungssteigerung geht wohl mit Sicherheit hervor, daß das Hormon ohne Zwischenschaltung anderer Organe direkt am Erfolgsorgan angreift. Da wir aber auch aus den Versuchen von *Pézaré*¹⁾ und besonders *Caridroit*²⁾ wissen, daß Kammteile, die autoplastisch an anderen Stellen des Körpers wieder implantiert wurden, sich so verhalten, als ob sie an ihrer natürlichen Stelle säßen, d. h. ihre normale Struktur behalten, wenn die Hoden des Tieres intakt sind, und atrophieren, wenn die Tiere kastriert werden, ist eine Anteilnahme nervöser Bahnen an der Kammreaktion kaum anzunehmen. Es handelt sich somit bei der perkutanen Resorption des männlichen Hormons um eine rein hormonale Reaktion. Daß diese Reaktion aber auch eine spezifische ist, wird wohl dadurch bewiesen, daß in den histologischen Schnittpräparaten von Kapaunenkämmen, die auf die perkutane Art behandelt wurden, sich das typische muco-elastische Gewebe mit reichem Mucoidgehalt nachweisen ließ. Es bliebe noch zu erwähnen, daß alle Medien, in denen das männliche Hormon aufgenommen war, frei von Hormon auf die Kämmen gebracht wurden, ohne daß ein Wachstum auftrat, das über die normale Variationsbreite hinausging. Der Effekt bei perkutaner Einreibung des männlichen Hormons ist übrigens so auffallend, daß bereits am 2., spätestens am 3. Tag die Rötung und Verdickung des Kammes sichtbar wird. Gleichzeitig nimmt die Oberfläche statt des runzligen und schuppigen ein glattes und turgeszentes Aussehen an. Wenige Tage nach dem Aussetzen der Einreibungen setzt der Rückbildungsprozeß zum Kapaunen-kamm wieder ein, so daß die Tiere nach etwa 3wöchentlicher Ruhe erneut in den Versuch genommen werden können.

¹⁾ *Pézaré*, a. a. O.

²⁾ *F. Caridroit*, *Compt. rend. Soc. Biol.*, 92, 565. 1925.
Bull. Biol., 60, 135/312, 1926.

Nachdem die perkutane Anwendungsmöglichkeit des männlichen Hormons erwiesen war, erhob sich die Frage, ob dieser Effekt auch zu erzielen sein würde, wenn die perkutane Applikation nicht am Erfolgsorgan selbst, dem Kamm mit seinem großen Kapillarnetz, sondern an irgendeiner anderen Stelle der Haut erfolgte. Zu diesem Zweck wurden einige Kapannen an der Brust unter den Flügeln von den Federn befreit und hier die Einpinselungen mit Hormonlösungen vorgenommen. Zur Anwendung kam ein starkes, in Öl gelöstes Hormonpräparat, das im Kubikzentimeter 7 H.E. enthielt. Nur die konzentrierte Hormonlösung war imstande, ein Wachstum des Kammes von der Rückenbant aus auszulösen. Lösungen in der Verdünnung, wie sie perkutan am Kamm voll wirksam waren, blieben an der Rückenhaut wirkungslos. Für ein 30%iges Wachstum war etwa die 3,5fache Menge an der Rückenhaut nötig als bei intramuskulärer Anwendung. Setzt man die bisher angegebenen Zahlen zueinander in Vergleich, so verhalten sich die Mengen des Hormons, die bei gleicher Wirkung an den verschiedenen Applikationsstellen nötig sind, wie folgt:

Rückenhaut	175
Intramuskulär	50
Injektion unter den Kamm	2,5
Perkutan am Kamm selbst	1

Die Diskrepanz zwischen der Resorption vom Rücken und der vom Kamm läßt sich vielleicht so erklären, daß sich die vom Rücken perkutan resorbierte Menge Hormon wohl zunächst im ganzen Organismus verteilt, so daß nur ein kleiner Teil der aufgenommenen Hormonmenge auf dem Blutwege bis zum Kamm gelangt, während das Hormon, am Kamm direkt appliziert, gleich auf das spezifische Gewebe stößt, bevor es in die zentral gelegenen großen Gefäße gelangt und an den übrigen Körper abgegeben wird. Der große Wirkungsunterschied zwischen intramuskulärer und perkutaner Wirksamkeit läßt auch darauf schließen, daß ein großer Teil des Hormons im Organismus

entweder rasch abgehaut oder doch ausgeschieden wird, bevor er seine Wirkung am Kamm hat entfalten können. Wir wissen, daß der geschlechtsreife Mann am Tag etwa 5—7 H.E. ausscheidet. Schließlich ist auch vom weiblichen Sexualhormon, dem Follikelhormon, bekannt, wie rasch der Organismus parenteral zugeführte Mengen eliminiert.

Die Tatsache, daß die leichte perkutane Resorption des männlichen Hormons am Erfolgsorgan lediglich die Folge der günstigen Lage dieses Organs zu sein scheint und daß eine perkutane Resorption vom Rücken aus der intramuskulären Applikation im Effekt unterlegen ist, steht einer therapeutischen Anwendung des männlichen Hormons im Sinne perkutaner Einreibungen entgegen. Dagegen stellt der perkutane Zuführungsweg eine wesentliche Verbesserung unserer Standardisierungsmethode dar, da die perkutane Kammreaktion etwa 50mal empfindlicher ist als die intramuskuläre Injektion. Wenn daher Voss und Loewe¹⁾ angehen, daß ihr zytologischer Regenerationstest etwa 5—10mal empfindlicher sei als der übliche Hahnenkammtest, muß der perkutane Hahnenkammtest den zytologischen Test Loewes wiederum um das 5—10fache übertreffen. Die perkutane Methode wird sich dann besonders empfehlen, wenn es sich darum handelt, in ganz rohen Extrakten nach dem Hormon zu suchen, wobei bisher meist die zu große Toxizität der Begleitstoffe gestört hat, zumal man des geringen Hormongehalts wegen noch sehr große Mengen hat injizieren müssen. So gelang es, mit einem Rohextrakt des männlichen Hormons und einer Menge, die 0,6 g frischer Drüse pro Tag entsprach, ein Wachstum des Kammes im Mittel um 44 % zu erzeugen (50 %, 38,9 %, 42,6 %). Es ergiht sich somit die Möglichkeit, das männliche Hormon mit Hilfe der perkutanen Reaktion in Ausgangsmaterialien zu finden, deren Untersuchung ohne Extraktionsmethoden bisher negativ ausgefallen war. So bedarf es bekanntlich

¹⁾ Voss und Loewe, a. a. O.

umständlicher Anreicherungsverfahren, um das männliche Hormon im normalen Männerharn nachzuweisen. Mit Hilfe des perkutanen Testes konnte schon mit 0,1 cem eines Männerharnes, der im Vakuum auf ein Zehntel seines Volumens eingengt war, ein Wachstumseffekt von 25—30% erzielt werden, eine Beobachtung, die zurzeit von uns zu einer einfachen Bestimmungsmethode des männlichen Hormons für klinische Zwecke im Harn, Blut usw. ausgearbeitet wird.

Ganz allgemein interessiert nunmehr die Frage nach der Möglichkeit der perkutanen Resorption anderer Hormone. Wenn auch das Erfolgsorgan des männlichen Hormons, der Hahnenkamm, besonders günstig gelegen ist für das Studium von Resorptionsvorgängen, ist auch für andere Hormone bei geeigneter Anwendung ihre perkutane Wirksamkeit zu erwarten. So hat *Zondek*¹⁾ schon vor einer Reihe von Jahren angegeben, daß es ihm gelungen sei, den *Allen-Doisy-Test* an der kastrierten weiblichen Maus auch dann auszulösen, wenn er das Follikelhormon in Salbenform auf die rasierte Haut des Tieres einrieb. Die Wirkung des Hormons war etwa 7 mal schwächer als bei subkutaner Anwendung. Zur Nachprüfung einer perkutanen Resorption des Follikelhormons und darüber hinaus des Corpus-luteum-Hormons wurden weibliche infantile Kaninchen von 500—600 g, wie sie *Clauberg* für die Standardisierung des Corpus-luteum-Hormons verwendet, am Bauch vorsichtig rasiert und 8 Tage lang täglich mit Follikelhormon, das in Öl gelöst war, eingerieben. Am 9. Tag wurde ein Teil der Tiere getötet. Die Uteri waren im Vergleich zu den Kontrollen dick geschwollen und zum Teil gerötet, das histologische Bild zeigte alle Zeichen der Proliferation. Eine zweite Gruppe von Tieren, die gleichfalls perkutan mit Follikelhormon vorbehandelt worden war, wurde im Anschluß daran mit einem Corpus-luteum-Präparat, ebenfalls in Öl, 5 Tage lang perkutan weiterbehandelt mit dem Ergebnis, daß die Uteri eine

¹⁾ B. Zondek, Klin. Wschr. 1929, 2229.

nahezu vollständige deziduale Umwandlung aufwiesen. Kontrollen, die in derselben Zeit nur mit Sesamöl eingerieben worden waren, zeigten selbstverständlich keinerlei Reaktion. Follikelhormon und Corpus-luteum-Hormon waren somit perkutan resorbiert worden, und es scheint, daß die Lipoidlöslichkeit dieser Hormone ausschlaggebend ist für die Eigenschaft eines Hormons, perkutan resorbiert zu werden. Die Dosen, die zur dezidualen Umwandlung der Uteri infantiler Kaninehen notwendig waren, betrugen etwa das 10fache der Menge, die *Clauberg* für seinen Test benötigt.

Die Verwendung von Fermenten in der Lebensmittelindustrie

DR. FRITZ LANGE und DR. ARNOLD BOHNE
Aus dem Biochemischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Die Kunde von der Nutzbarmachung von Fermentprozessen bei der Bereitung von Nahrungs- und Genußmitteln reicht bis in das tiefe Altertum der Menschheitsgeschichte zurück. In der Hauptsache waren es wohl die sogenannten Gärungsfermente, die man unbewußt zur Herstellung berauschend wirkender Getränke benutzte, wobei die verschiedenartigsten zuckerhaltigen Flüssigkeiten einer Spontangärung durch Mikroorganismen wie Hefen, Milchsäurebakterien usw. überlassen wurden. Es sei hier nur kurz an den Met der alten Germanen erinnert, der durch Vergärung von Honig erhalten wurde, ein Verfahren, das von vielen primitiven Völkern noch bis zum heutigen Tage geübt wird. Man denke ferner an die aus den verschiedensten Cerealien, aus Reis, Mais usw. gewonnenen alkoholhaltigen Getränke, den Reiswein der Japaner, an die sogenannten Negerbiero und andere mehr.

Das geheimnisvolle Dunkel dieser Gärungsprozesse wurde erst zu Beginn des 19. Jahrhunderts gelichtet, als die deutschen Forscher *Schwann* und *Kützting* die Hefezellen als lebende Organismen entdeckten und beschrieben, nachdem bereits 100 Jahre vor ihnen *Leeuwenhoek* mit dem von ihm erfundenen Mikroskop zum ersten Male überhaupt Hefezellen gesehen hatte, ohne allerdings ihre Bedeutung auch nur zu ahnen. Nunmehr machte die wissenschaftliche Erkenntnis der alkoholischen Gärung rasche Fortschritte, und es blieb wiederum einem deutschen Gelehrten vorbehalten, die inzwischen allgemein anerkannte Gärwirkung der Mikroorganismen, im besonderen der Hefe, von der lebenden Zelle, mit der sie unlösbar verknüpft zu sein schien, abzutrennen. So gelang es *Eduard Buchner* im Jahre 1897, durch Zerreiben

von Hefe mit Quarzsand und Kieselgur einen zellfreien Preßsaft herzustellen, dem genau die gleichen zuckerspaltenden Eigenschaften innewohnten wie der lebenden Hefe selbst. Hierdurch war zum ersten Male ein echtes Fermentpräparat hergestellt worden und, was dabei vielleicht das Wichtigere war, eine ganz neue Methodik angegeben, durch deren allgemeine Anwendung sich bald Erfolg an Erfolg reihte. Denn nachdem man gelernt hatte, die verschiedensten nicht nur in den Mikroorganismen, sondern überall in den höher organisierten Wesen des Tier- und Pflanzenreiches vorkommenden Fermente von der lebenden Zelle zu trennen, konnte nunmehr auch die Fermentchemie einsetzen, war es doch naheliegend, daß man versuchte, den wirksamen Bestandteil der gewonnenen Extrakte zu isolieren. Während man sich im Anfang damit begnügte, aus den leicht verderblichen wässerigen Extrakten durch Fällung mit Alkohol, Aceton usw. mehr oder weniger haltbare Trockenpräparate herzustellen, wurden im letzten Jahrzehnt insbesondere von *Willstätter* und seiner Schule Methoden geschaffen, mit deren Hilfe es möglich war, die den rohen Fermentpräparaten anhaftenden Begleitstoffe weitgehend abzutrennen und dadurch Präparate herzustellen, deren Wirkung das Ausgangsmaterial um das Zehntausendfache und mehr übertrafen. Allerdings ist es bis heute noch nicht gelungen, die Reinigung der Fermente so weit zu treiben, daß man dabei zu chemisch eindeutigen Körpern mit spezifischer Fermentwirkung gelangte, ein Ziel, das für die praktische Verwendung der Fermente übrigens nur von theoretischem Interesse ist, da die Technik im allgemeinen mit verhältnismäßig rohen Präparaten auskommt und die Verwendung hochgereinigter Fermente ohnehin auch viel zu kostspielig wäre.

Wie schon eingangs dargelegt wurde, waren es in erster Linie die Gärungsprozesse im engeren Sinne, denen in weitem Maße praktische Bedeutung zukam, und unter diesen wieder diejenigen Vorgänge, bei deren Ablauf sich aus Kohlenhydraten Alkohol bildet. Große Industriezweige haben sich auf der Verwendung

von Hefe als dem eigentlichen Alkoholerzeuger aufgebaut, die der Herstellung von Bier und Wein, Kognak, Rum usw. sowie der Gewinnung von reinem Alkohol selbst dienen, der alsdann auf Trinkbranntwein, Liköre u. dgl. weiterverarbeitet wird. Die hierfür benötigte Hefe wird von den verschiedenen Gärungsindustrien heute meist selbst erzeugt und in Form sogenannter Reinzuchthefen verwendet. Nicht zu vergessen sei in diesem Zusammenhange die Anwendung der Hefe im Bäckereigewerbe, bei dem es zwar nicht auf die Erzeugung von Alkohol, sondern auf die Nutzbarmachung der anderen Komponente des fermentativen Zuckerabbaus, der Kohlensäure, ankommt, die den Teig auflockert und dadurch dem Gebäck während des Backprozesses seine feinporige Beschaffenheit verleiht.

Es würde viel zu weit führen, wollte man die mannigfachen Verwendungsmöglichkeiten der Hefe in dem Rahmen dieses Aufsatzes im einzelnen behandeln. Die Tatsache allein, daß die von den verschiedensten Zweigen der Gärungsindustrie gebrauchten Hefearten heute zum Teil in größtem technischen Ausmaße hergestellt werden, läßt es begreiflich erscheinen, daß gerade die Fermente der Hefe am besten untersucht sind, weil die Hefen wegen ihrer vielseitigen technischen Verwendung zu einem wohlfeilen Ausgangsmaterial für wissenschaftliche Forschungen geworden ist und weil sie wie kaum ein anderer Naturstoff eine wahre Fundgrube für den Fermentchemiker darstellt. Nicht nur der für den Abbau der Kohlenhydrate zu Alkohol und Kohlensäure erforderliche Fermentkomplex ließ sich an der Hefe besonders gut studieren; es konnte in ihr auch eine ganze Anzahl anderer dem Eiweiß- und Fettstoffwechsel dienender Fermente nachgewiesen werden, die in ihrem harmonischen Zusammenwirken das Leben der Hefezellen überhaupt ausmachen. Somit stellt die Hefe mit ihrem reichen Fermentschatz geradezu ein Modell für den physiologischen Chemiker dar, der an ihm besonders anschaulich das Spiel der Fermente im Stoffwechsel der Zelle verfolgen kann, Reaktionen, die sich in analoger Weise mit gewissen

Modifikationen in der gesamten Tier- und Pflanzenwelt abspielen und dieser im Gegensatz zur unbelebten Natur den Stempel des Lebens aufdrücken.

Es sei vielleicht an dieser Stelle noch kurz darauf hingewiesen, daß der durch die Hefe bewirkte Zerfall des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure, der schon zu Anfang des 19. Jahrhunderts durch die berühmte Gärungsgleichung von *Gay-Lussac* eine chemische Formulierung erfahren hatte, einen recht verwickelten Prozeß darstellt, an dem eine ganze Reihe von Fermenten beteiligt ist. Eine gewisse Rolle spielt hierbei die intermediäre Bildung von Zuckerphosphorsäureestern durch spezifisch wirkende Fermente, die von *Iwanoff* im Jahre 1907 entdeckt und einige Jahre später von *Harden* und *Young* zum ersten Male richtig gedeutet wurde. Aufbauend auf den Arbeiten der genannten Forscher gelang die technische Herstellung der Hexose-di-phosphorsäure, deren Calciumsalz (Candiolin) als Roborans therapeutische Verwendung findet.

Bekanntlich sind die Hefen nicht nur zur Vergärung von Monosacchariden wie Glucose, Fructose, Mannose usw., sondern auch zum Abbau von Disacchariden befähigt. So wird die Maltose, die z. B. bei der Bierherstellung im Mälzereiprozeß durch Diastaseeinwirkung auf die Stärke des Gerstenkornes entsteht, durch die Berührung mit Hefe in zwei Moleküle Glucose aufgespalten, die dann ihrerseits der normalen Vergärung zu Alkohol und Kohlensäure unterliegt. Auch der Rohr- oder Rübenzucker erleidet vor seiner Vergärung eine Aufspaltung in die Monosaccharide Glucose und Fructose. Bei der Zerlegung der Maltose handelt es sich um die Wirkung der Hefe-Maltase, bei der Spaltung des Rohrzuckers um die der Hefe-Invertase. Der letztere Prozeß hat insofern eine gewisse praktische Bedeutung erlangt, als die Invertase neuerdings eine vielseitige Verwendung in der Zuckerwarenindustrie gefunden hat. Man hatte nämlich festgestellt, daß man z. B. den aus Fondant, einer bis zu 80 % Rohrzucker enthaltenden Masse, bestehenden Kern von Pralinen

durch Zusatz von etwas Hefe geschmeidig machen kann. Das bot insofern einen Vorteil, als dadurch die Herstellung von Pralinen mit halbflüssigem Kern technisch sehr vereinfacht wurde. Während man bisher derartige Pralinen nur so anfertigen konnte, daß man den plastischen Kern vor dem Überziehen mit Schokolade mit einer Zuckerhülle versehen mußte, was bei starker flüssigem Inhalt besonders schwierig und umständlich war, erreichte man durch den Zusatz von Hefe zum festen Fondantkern, der sich als solcher leicht mit Schokolade überziehen läßt, eine allmählich eintretende Erweichung bzw. Verflüssigung des Zuckerkernes innerhalb der fertigen Praline. Anstelle der Hefe, die bei zu warmer Lagerung der Waren unter Umständen zu Gärungen und damit zu einem Aufplatzen der Pralinen Veranlassung geben kann, verwendet man jetzt die isolierte Hefe-Invertase, die heute bereits in verhältnismäßig reiner Form in den Handel gebracht wird (Invertase „Bayer“). Die Benutzung derartiger Invertasepräparate ist übrigens nicht auf den geschilderten Zweck beschränkt, vielmehr hat die Tatsache, daß invertierte Rohrzuckergemische langsamer austrocknen als nicht invertierte, dazu geführt, die Invertase ganz allgemein als Frischhaltungsmittel, z. B. auch bei Marzipanwaren, anzuwenden. Der Invertasegehalt läßt sich übrigens recht genau ermitteln, so daß es technisch möglich ist, die Handelspräparate hinsichtlich ihrer Fermentwirkung genau zu standardisieren, was dem Verbraucher die Anwendung außerordentlich erleichtert.

Außer der hier besprochenen Verwendung der Hefe und ihrer Fermente gibt es in der Lebensmittelindustrie noch eine ganze Reihe von Vorgängen, bei denen die Fermente anderer Mikroorganismen eine nicht minder wichtige Rolle spielen. Speisecessig, Sauerkraut, Kefir, Yoghurt, Käse u. a. m. seien hierfür nur als Stichworte angeführt. Ein Fermentverfahren, das in neuester Zeit eine große Bedeutung zu erlangen verspricht, möge hier noch etwas ausführlicher besprochen werden.

Modifikationen in der gesamten Tier- und Pflanzenwelt abspielen und dieser im Gegensatz zur unbelebten Natur den Stempel des Lebens aufdrücken.

Es sei vielleicht an dieser Stelle noch kurz darauf hingewiesen, daß der durch die Hefe bewirkte Zerfall des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure, der schon zu Anfang des 19. Jahrhunderts durch die berühmte Gärungsgleichung von *Gay-Lussac* eine chemische Formulierung erfahren hatte, einen recht verwickelten Prozeß darstellt, an dem eine ganze Reihe von Fermenten beteiligt ist. Eine gewisse Rolle spielt hierbei die intermediäre Bildung von Zuckerphosphorsäureestern durch spezifisch wirkende Fermente, die von *Ivanoff* im Jahre 1907 entdeckt und einige Jahre später von *Harden* und *Young* zum ersten Male richtig gedeutet wurde. Aufbauend auf den Arbeiten der genannten Forscher gelang die technische Herstellung der Hexose-di-phosphorsäure, deren Calciumsalz (Candiolin) als Roborans therapeutische Verwendung findet.

Bekanntlich sind die Hefen nicht nur zur Vergärung von Monosacchariden wie Glucose, Fructose, Mannose usw., sondern auch zum Abbau von Disacchariden befähigt. So wird die Maltose, die z. B. bei der Bierherstellung im Mälzereiprozeß durch Diastaseeinwirkung auf die Stärke des Gerstenkornes entsteht, durch die Berührung mit Hefe in zwei Moleküle Glucose aufgespalten, die dann ihrerseits der normalen Vergärung zu Alkohol und Kohlensäure unterliegt. Auch der Rohr- oder Rübenzucker erleidet vor seiner Vergärung eine Aufspaltung in die Monosaccharide Glucose und Fructose. Bei der Zerlegung der Maltose handelt es sich um die Wirkung der Hefe-Maltase, bei der Spaltung des Rohrzuckers um die der Hefe-Invertase. Der letztere Prozeß hat insofern eine gewisse praktische Bedeutung erlangt, als die Invertase neuerdings eine vielseitige Verwendung in der Zuckerwarenindustrie gefunden hat. Man hatte nämlich festgestellt, daß man z. B. den aus Fondant, einer bis zu 80 % Rohrzucker enthaltenden Masse, bestehenden Kern von Pralinen

Über die Vorgänge, die sich bei der Einwirkung der trüb-abbauenden Fermente abspielen, ist noch verhältnismäßig wenig bekannt. Immerhin kann mit einiger Sicherheit ausgesagt werden, daß es sich wohl in der Hauptsache um den Abbau der in allen Obst- und Fruchtsäften enthaltenen Pektinstoffe handelt, über deren chemische Zusammensetzung uns ganz besonders die Arbeiten von *Felix Ehrlich* Aufschluß geben, der übrigens kürzlich aus verschiedenen *Penicillium*-arten ein mit Pektolase bezeichnetes Enzym isolieren konnte, das Pektolsäure zu Galakturonsäure abzubauen vermag. Dieser Befund ist deshalb sehr interessant, weil auch das Filtrationsenzym „*Bayer*“ zu dem gleichen Abbau der Pektolsäure führt. Ob das letztgenannte Präparat auch noch andere Pektin abbauende Fermente enthält, ist noch nicht endgültig entschieden. Dagegen steht fest, daß dem Filtrationsenzym diastatische Eigenschaften zukommen, die seine Verwendung in anderen Lebensmittelgewerben ermöglichen, wo es darauf ankommt, außer den Pektinstoffen auch Stärke abzubauen, die z. B. bei der Herstellung von Fruchtgelees oder technischen Pektinlösungen störend wirkt. Auch Eiweiß spaltende Fermente konnten nachgewiesen werden, die sich gerade in der im Filtrationsenzym vorliegenden Form im Brauergewerbe zur Herstellung kältefester Biere eignen. Damit ist allerdings die Anwendungsmöglichkeit des Filtrationsenzyms keineswegs erschöpft; doch sind die Untersuchungen darüber noch zu sehr im Fluß, als daß es gerechtfertigt erscheint, an dieser Stelle näher darauf einzugehen.

Es sei dagegen mit einigen Worten der Vorzüge gedacht, die das Fermentieren der Süßmoste gegenüber der Anwendung der bisher üblichen aus der Weinbereitung übernommenen Schönungsmethoden aufweist, die, wie oben bereits dargelegt wurde, in vielen Fällen überhaupt nicht durchführbar sind. Diese Vorzüge beruhen neben der Ermöglichung einer leichten Filtrierbarkeit vornehmlich in einer unbestreitbaren Qualitätsverbesserung der fermentierten Süßmoste, worauf *Mehlitz* in einer

In den letzten Jahren hat man sich besonders in Amerika und in der Schweiz mit der Herstellung unvergorener Obstsäfte, sogenannter Süßmoste befaßt, die sich einen schnell wachsenden Abnehmerkreis sichern konnten. Auch in Deutschland ist die Zahl der Süßmost herstellenden Betriebe in raschem Steigen begriffen. Es ist deshalb einleuchtend, daß man bestrebt gewesen ist, die anfangs ziemlich primitiven Herstellungsmethoden dauernd zu verbessern. Die Schwierigkeiten liegen besonders in der schlechten Filtrierbarkeit der unvergorenen Säfte, bei denen die bei der Weinherstellung üblichen sogenannten Schönungsmethoden oft versagen, so daß der Hersteller dadurch häufig gezwungen ist, solche Moste anderweitig zu verwerten. Die Ursache dieser schweren Filtrierbarkeit ist in dem Vorhandensein der Trubstoffe zu erblicken, die durch die reichliche Anwesenheit von Schuttkolloiden ein ziemlich stabiles System fein disperser Zellbestandteile bilden und infolge ihrer geringen Teilchengröße jedes Filter schon nach kurzer Zeit verstopfen. Zur Zerstörung dieser Trubstoffe benutzte man zuerst in Amerika aus Schimmelpilzen hergestellte Fermente, ein Verfahren, das auch in Deutschland Eingang fand und hier durch die Verwendung hochwirksamer Präparate (Filtrationsenzym „*Bayer*“) eine günstige Weiterentwicklung genommen hat. Es kommen gegenwärtig in der Hauptsache drei Verfahren zur Herstellung von Süßmosten in Frage, das sogenannte Kaltverfahren von *Mehlitz*, bei dem die frisch gepreßten Keltermoste „fermentiert“ und nach Abscheidung der nunmehr leicht filtrierbaren Trubstoffe sofort durch Entkeimungsfiltration haltbar gemacht, ferner das Warmverfahren nach *Baumann*, bei dem die meist bei erhöhter Temperatur „fermentierten“ Säfte nach Abscheidung der Trubstoffe pasteurisiert werden. Dazu kommt als drittes ein besonders in der Schweiz ausgeübtes Verfahren (*Widmer*), bei dem die Keltermoste in einer Kohlensäureatmosphäre unter Überdruck bei tiefen Temperaturen und unter gleichzeitiger Fermentierung eingelagert werden.

Über die Vorgänge, die sich bei der Einwirkung der trüb-abbauenden Fermente abspielen, ist noch verhältnismäßig wenig bekannt. Immerhin kann mit einiger Sicherheit ausgesagt werden, daß es sich wohl in der Hauptsache um den Abbau der in allen Obst- und Fruchtsäften enthaltenen Pektinstoffe handelt, über deren chemische Zusammensetzung uns ganz besonders die Arbeiten von *Felix Ehrlich* Aufschluß geben, der übrigens kürzlich aus verschiedenen *Penicillium*-arten ein mit Pektolase bezeichnetes Enzym isolieren konnte, das Pektolsäure zu Galakturonsäure abzubauen vermag. Dieser Befund ist deshalb sehr interessant, weil auch das Filtrationsenzym „*Bayer*“ zu dem gleichen Abbau der Pektolsäure führt. Ob das letztgenannte Präparat auch noch andere Pektin abbauende Fermente enthält, ist noch nicht endgültig entschieden. Dagegen steht fest, daß dem Filtrationsenzym diastatische Eigenschaften zukommen, die seine Verwendung in anderen Lebensmittelgewerben ermöglichen, wo es darauf ankommt, außer den Pektinstoffen auch Starko abzubauen, die z. B. bei der Herstellung von Fruchtgelees oder technischen Pektinlösungen störend wirkt. Auch Eiweiß spaltende Fermente konnten nachgewiesen werden, die sich gerade in der im Filtrationsenzym vorliegenden Form im Brauergewerbe zur Herstellung kältefester Biere eignen. Damit ist allerdings die Anwendungsmöglichkeit des Filtrationsenzyms keineswegs erschöpft; doch sind die Untersuchungen darüber noch zu sehr im Fluß, als daß es gerechtfertigt erscheint, an dieser Stelle näher darauf einzugehen.

Es sei dagegen mit einigen Worten der Vorzüge gedacht, die das Fermentieren der Süßmoste gegenüber der Anwendung der bisher üblichen aus der Weinbereitung übernommenen Schönungsmethoden aufweist, die, wie oben bereits dargelegt wurde, in vielen Fällen überhaupt nicht durchführbar sind. Diese Vorzüge beruhen neben der Ermöglichung einer leichten Filtrierbarkeit vornehmlich in einer unbestreitbaren Qualitätsverbesserung der fermentierten Süßmoste, worauf *Mehlitz* in einer

ganzen Reihe von Arbeiten hingewiesen hat. Während nach dem bisherigen Verfahren geschönte Moste oft herb und nüchtern schmecken, zeigen die fermentierten Obstsäfte einen milden, vollen, abgerundeten Geschmaek, der dem Genuß frischen Obstes am näebsten kommt. Farbe und Aroma der fermentierten Säfte sind natürlicher, die Mosto sind vor allen Dingen völlig blank, da auch der feinste Trübungsschleier durch das Ferment zerstört wird. Ein weiterer wirtschaftlicher Vorteil ist die Abkürzung der Lagerzeit fermentierter Süßmoste, weil die auf den Lagerfässern nachträglich stets auftretenden Ausscheidungen, der sogenannte Lagertrub, schneller zum Stillstand kommen, so daß die Moste sehneller ausreifen und damit eber verkaufsfähig werden. Schließlich darf nicht übersehen werden, daß die Herstellung von Stein- und Beerenobst-Süßmosten auf kaltem Wege mittels Haltbarmachung durch Entkeimungsfilter wegen der Unmöglichkeit einer ausreichenden Vorklärung bisher überhaupt nicht zum Ziele führte.

So eröffnen sich der in allen Kulturländern rasch aufblühenden Obstverwertungsindustrie neue Möglichkeiten zur Vervollkommenung ihrer Erzeugnisse und einer gerade für deutsche Verhältnisse wichtigen rationelleren Ausnntzung der Rohstoffe, da der Überschuß der verschiedenen Obstsorten über das Maß dessen, was früher auf alkoholhaltige Getränke verarbeitet wurde, nunmehr einer neuartigen Verwendung in der gärungslosen Früchteverwertung zugeführt werden kann.

Wie einst die Hefe den Anlaß zur Entstehung einer großen weitverzweigten Gärungsindustrie gegeben hat, so werden vielleicht einmal auch die Schimmelpilze, die im allgemeinen bisher nur als ungebetene Zerstörer unserer Lebensmittel gelten, zu nützlichen Werkzeugen in der Hand des Fermentchemikers werden.

Die chemische Synthese des Nebennierenmark-Hormones

(Geschichtlicher Rückblick)

DR. M. BOCKMÜHL

Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie A.G.,
Werk Hoechst

Innerhalb der kurzen Zeitspanne von zehn Jahren wurden Insulin, Thyroxin, mehrere Hormone des Hypophysenhinter- und -zwischenlappens, über ein halbes Dutzend des Vorderlappens, die Sexualhormone u. a. isoliert und in ihrer Wirkung erkannt, zum Teil ihre chemische Konstitution erschlossen oder gar ihre Synthese vollzogen. In einer Zeit der rastlos vorwärtstrebenden Forschung und der wachsenden Erkenntnis der biologischen Zusammenhänge, einer Zeit, in der bereits der Laie in illustrierten Zeitungen mit Großtaten eines *Ehrlich*, *Wagner v. Jauregg* oder *Banting* und *Best* bekannt gemacht wird, ist es vielleicht nicht unangebracht, einen Rückblick auf Arbeiten zu tun, in welchen sich Mediziner und Chemiker um die Jahrhundertwende um die Klärung des ebemisch-symbolischen Ausdrucks des Nebennierenmark-Hormones und seiner Wirkungsrichtungen bemühten, Arbeiten, welche schließlich durch die Synthese des Hoechster Werkes gekrönt wurden, die erste Synthese eines Hormones.

Die eigentliche Erforschung des wirksamen Prinzips des Nebennierenmarks ist relativ jungen Datums. Es existieren zwar einige weiter zurückliegende Beobachtungen: Im Jahre 1855 wurden von *Addison* bestimmte allgemeine und lokale Krankheitserscheinungen mit den pathologisch veränderten Nebennieren in Zusammenhang gebracht. Ein Jahr später stellte *Vulpian* charakteristische Farbreaktionen des Nebennierenpreßsaftes fest — mit Eisenchlorid grün, mit Alkalien oder Jod rosa. *Brown-Séquard* beobachtete zur gleichen Zeit nach Nebennierenexstirpation Eingehen der Tiere. Auch befaßten sich in der Folge

ganzen Reihe von Arbeiten hingewiesen hat. Während nach dem bisherigen Verfahren geschönte Moste oft herb und nüchtern schmecken, zeigen die fermentierten Obstsäfte einen milden, vollen, abgerundeten Geschmack, der dem Genuß frischen Obstes am nächsten kommt. Farbe und Aroma der fermentierten Säfte sind natürlicher, die Moste sind vor allen Dingen völlig blank, da auch der feinste Trübungsschleier durch das Ferment zerstört wird. Ein weiterer wirtschaftlicher Vorteil ist die Abkürzung der Lagerzeit fermentierter Süßmoste, weil die auf den Lagerfässern nachträglich stets auftretenden Ausscheidungen, der sogenannte Lagertrub, sebneller zum Stillstand kommen, so daß die Moste schneller ausreifen und damit eher verkaufsfähig werden. Schließlich darf nicht übersehen werden, daß die Herstellung von Stein- und Beerenobst-Süßmosten auf kaltem Wege mittels Haltharmachung durch Entkeimungsfilter wegen der Unmöglichkeit einer ausreichenden Vorklärung bisher überhaupt nicht zum Ziele führte.

So eröffnen sich der in allen Kulturländern rasch aufblühenden Obstverwertungsindustrie neue Möglichkeiten zur Vervollkommenung ihrer Erzeugnisse und einer gerade für deutsche Verhältnisse wiebtigen rationelleren Ausnutzung der Rohstoffe, da der Überschuß der verschiedenen Obstsorten über das Maß dessen, was früher auf alkoholhaltige Getränke verarbeitet wurde, nunmehr einer neuartigen Verwendung in der gärungslosen Früchteverwertung zugeführt werden kann.

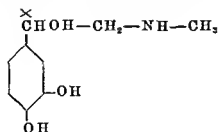
Wie einst die Hefe den Anlaß zur Entstehung einer großen weitverzweigten Gärungsindustrie gegeben hat, so werden vielleicht einmal auch die Schimmelpilze, die im allgemeinen bisher nur als ungebetene Zerstörer unserer Lebensmittel gelten, zu nützlichen Werkzeugen in der Hand des Fermentchemikers werden.

aliphatische Seitenkette. Diese besteht aus einer Kohlenstoffkette mit einer alkoholischen ($-\text{CH}-\text{OH}-$) und einer basischen Gruppe ($-\text{NH}-\text{CH}_3-$). Die Alkoholgruppe befindet sich in der Nähe des aromatischen Kernes, während die basische Gruppe ihm abgewandt steht. Das die alkoholische Gruppe tragende C-Atom (\times) ist asymmetrisch; darauf ist die optische Aktivität des Suprarenin zurückzuführen.

Die von *Vulpian* gefundene Farbreaktion gegenüber Eisenchlorid u. a. ist nun nicht für das Suprarenin spezifisch, sondern in wechselndem Grade allen o-Dioxybenzolen eigen, also auch dem Brenzkatechin. Diese Analogie verführte *Brunner* zu der irrtümlichen Annahme der Identität des Wirkstoffes („Chromogen“) mit Brenzkatechin. Dagegen erörterte *Fränkel* als erster die Möglichkeit eines stickstoffhaltigen Derivates der o-Dioxybenzolreihe. Wenngleich hierdurch die Verwandtschaft mit Brenzkatechin angezeigt wurde, so ging man mit der Behauptung von anderer Seite entschieden zu weit, durch Kochen des Wirkstoffes mit HCl wurde Brenzkatechin abgespalten, und *John J. Abel* postulierte richtig: „Wir können sicher sein, Brenzkatechin ist nicht in der Nebenniere vorhanden.“ Konnte aber nicht doch ein Derivat des Brenzkatechins im Sinne von *Fränkel* vorliegen, zumal v. *Fürth* durch trockene Destillation des Wirkstoffes eine Verbindung erhalten hatte, welche er für Brenzkatechin hielt?

Man erkannte bald, daß die weitere Klärung des Problems von der Reinheit des verwendeten Wirkstoffes abhängig sei. Kein Wunder, wenn man seiner Isolierung unter Ausschaltung von Ballaststoffen ganz besondere Aufmerksamkeit widmete. Aber wie? Der Körper läßt sich durch Extraktion der Drüsen mit Wasser zusammen mit Eiweiß ausziehen, ist darin also leicht löslich, aber auch infolge Oxydation sehr zersetzlich; also wie den Körper daraus abscheiden? *Abel* wählte einen Umweg: Er versuchte, die Substanz wasserunlöslich zu machen, und behandelte den enteiweißten wässerigen Extrakt mit Benzoylchlorid und

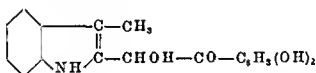
noch verschiedene Forscher mit dem Nebennierenthema. Aber einen starken Impuls erhielt die Problemstellung erst in den 90er Jahren, nämlich mit der Beobachtung *Schäfers* und *Olivers* einerseits und *Czybulskis* und *Symonoviczs* andererseits, wonach wässerige Nebennierenextrakte bereits in hoher Verdünnung den Blutdruck bedeutend zu erhöhen vermögen, und mit der Feststellung *Moore's*, daß sich die wirksame Substanz im Nebennierenmark befinde und offenbar mit dem „Chromogen“ von *Vulpian* identisch sein müsse. Damit war das Interesse für diese eigenartige Substanz erneut geweckt. Die Aussicht auf Klärung der Frage war nicht ungünstig, da die physiologische Chemie von Jahr zu Jahr neue Erkenntnisse brachte und die organische Analyse und Synthese zu lehren begann, wie man selbst die Erforschung komplizierter Naturprodukte anzugehen vermag. So war es also ganz natürlich, daß unser Thema eine große Zahl namhafter Physiologen und Chemiker auf den Plan rief. Es ist nicht möglich und auch nicht Zweck dieses Aufsatzes, eine lückenlose Liste aller Autoren zu geben, welche zu diesem Problem Beiträge geliefert haben, oder jede aufgefundene Reaktion anzuführen, vielmehr soll das Arbeitsgebiet nur in seinen markantesten Auswirkungen gekennzeichnet werden. Zur leichteren Beurteilung der Irren und Wirren jener Jahre wollen wir uns des chemischen Formelbildes von Suprarenin erinnern, so wie es durch die Synthese endgültig sichergestellt ist. Das Suprarenin



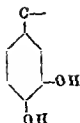
leitet sich vom Brenzkatechin ab, also einem Benzolkern mit zwei zueinander in Nachbarstellung befindlichen OH-Gruppen, in welchem ein Kernwasserstoffatom ersetzt ist durch eine

eines rein chemischen Körpers mache, und eine blutdrucksenkende. Erstere sollte aus C, H, N, O und S bestehen und beim Erhitzen auf 140° im Vakuum den S als H₂S verlieren! Weitaus glücklicher war ungefähr um die gleiche Zeit *v. Fürth* vorgegangen. Einer Anregung *Hofmeisters* in Straßburg folgend, derzufolge man die Oxydierung des Wirkstoffes während seiner Extraktion aus den Drüsen durch ein Reduktionsmittel (Zinkstaub in saurer Lösung) bis zu einem gewissen Grade verhindern kann, arbeitete *v. Fürth* in Gegenwart dieses Metalles in der Hitze und erhielt nach mehrfacher Vorreinigung des Extraktes eine hochwertige Lösung des Hormons. Ihre technische Darstellung wurde den Hoechst-Farbwerken übertragen und so erschien das Produkt von *Hofmeister* und *v. Fürth* im Jahre 1900 unter dem von *v. Fürth* vorgeschlagenen Namen Suprarenin in Deutschland auf dem Arzneimittelmarkt. Da man über den Wirkungscharakter des Suprarenin noch nicht genügend orientiert war, mahnte man zur Vorsicht und vermerkte auf dem Prospekt, daß es vorläufig nur äußerlich anzuwenden sei, daß es anaemisierend wirke und daß man diese Wirkung zur Vornahme von fast blutlosen Operationen und zur Verstärkung der Wirkung von Cocain, Atropin, Eserin u. a. benutze. Selbst zwei Jahre später, gelegentlich eines Zwischenfalles bei einer Einspritzung von Suprarenin in die Harnröhre zur Stillung einer Blutung, wobei zwar prompte Sistierung, aber auch eine schwere Intoxikation eingetreten war, fühlte sich *v. Fürth* in einer öffentlichen Mahnung zur Vorsicht beim Gebrauch von Nebennierenpräparaten veranlaßt. Wenngleich auf Grund des *Hofmeister-v. Fürth*schen Verfahrens die Reinheit des wirksamen Nebenniereninkretes für therapeutische Zwecke verbürgt schien, war diese Form für die weitere Aufklärung der chemischen Konstitution doch noch nicht geeignet. Und ferner mußte es vom technischen Standpunkt aus betrachtet eine reizvolle Aufgabe sein, ja, einen dringenden Wunsch bedeuten, sich durch die chemische Synthese des Markhormons von seiner umständlichen Gewinnung aus den Drüsen unabhängig zu

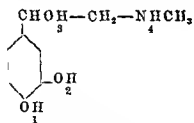
Natronlauge. In der Tat konnte er auf diese Weise die gesamte blutdruckwirksame Substanz abscheiden. Durch diesen Eingriff wird die Aminogruppe des Moleküls säureamidartig, die Phenolgruppen werden verschlossen und dadurch wird das Ganze stabiler und unlöslich, also abscheidbar. Es handelte sich nun noch darum, die Benzoylgruppen wieder abzuspalten. Dies gelang aber nicht völlig, und *Abel*, welcher nach Einwirkung verseifender Mittel sein Produkt benzoylfrei zu haben glaubte, fiel einer Täuschung zum Opfer, wodurch also weiteren aus seinen Beobachtungen, besonders seinen Analysenzahlen, gezogenen Schlüsse gegenstandslos wurden: Er fand als Summenformel für seine von ihm „Epinephrin“ genannte Verbindung $C_{17}H_{15}NO_4$ (die richtige Formel des Suprarenin ist $C_9H_{13}NO_3$). Da sein Produkt beim Schmelzen mit KOH einen hasischen Geruch entwickelte — „wobei der durchdringende Geruch des Skatols auftritt“ —, nahm *Abel* an, daß der Skatolrest als solcher in seiner Substanz vorhanden sein könne, und formulierte sein Epinephrin:



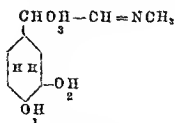
Als Indolderivat glaubte er die Entstehung des Epinephrins im Organismus aus eiweißartigen Vorstufen postulieren zu dürfen. (Zwei Jahre vorher hatten *Abel* und *Crawford* durch Destillation der Benzoylverbindung mit Zinkstaub im Wasserstoffstrom Pyrrol entstehen sehen, während sie mit Alkali das Auftreten eines coniin- und pyridinartigen Geruches festgestellt zu haben behaupteten, was sie zu der völlig irrigen Ansicht führte, das wirk-same Prinzip der Nebenniere gehöre zur Reihe der Pyridin-basen!) Zu den Fehlschlägen jener Zeit gehören auch die Angaben von *Gürber*, der in einem Vortrage ausführte, im Nebennieren-extrakt zwei Substanzen gefunden zu haben, eine blutdruck-steigernde, die „schön kristallisiert“ und deshalb den Eindruck



vorliegt. Weiter konnte *v. Fürth* feststellen, daß durch Acylierung des Suprarenin drei Säuregruppen in das Molekül eintreten. Aber bei der Deutung der Haftstellen dieser Acylgruppen kam *v. Fürth* vom richtigen Wege ab, mußte abkommen, weil seine Auffassung vom Charakter der basischen Seitenkette eine irrige war. Wohl hatte er durch Erhitzen mit Mineralsäuren Methylamin isolieren können und dadurch exakt bewiesen, daß Suprarenin eine Methylaminogruppe ($-\text{NH}-\text{CH}_3-$) enthalten müsse, doch vermutete er diese in Form einer Methylimidgruppe, da ein Teil des nach der heutigen Suprarenin-Formel in der Seitenkette vorhandenen Wasserstoffs von *v. Fürth* auf Grund von falsch gedeuteten Oxydationserscheinungen in den aromatischen Ring verlegt wurde. Würden wir die von *v. Fürth* damals als Ergebnis seiner Studien für das Suprarenin aufgestellte Formel $(\text{CH}_3)\text{NC}_2\text{HOH C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ entsprechend unserer heutigen Kenntnis aufteilen, so ergäbe sich etwa folgendes Bild:



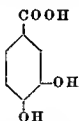
(heutige Formel)



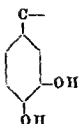
(nach *v. Fürth*)

Wie man sieht, können nach der *v. Fürth*schen Formel maximal drei Säurereste in das Molekül eintreten (bei 1, 2 und 3); nach der wahren Suprarenin-Formel dagegen vier. (Daß bei der *v. Fürth*schen Acylierungsreaktion nur drei Säurereste eintraten, lag an der chemischen Methodik.) Die von *v. Fürth* aufgestellte

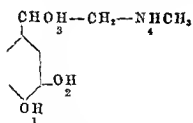
machen, rechnete man doch auf 1 Kilo der festen Substanz die Nebennierenorgane von 40000 Tieren. Es mußte daher als wesentlicher Fortschritt gehucht werden, als bekannt wurde, daß es in Amerika den Chemikern *Takamine* und *Aldrich* gelingen war, fast gleichzeitig und unabhängig voneinander den Wirkstoff in chemisch reiner und kristallisierter Form zu gewinnen. Sie konnten zeigen, daß aus den nach ihrem Verfahren gereinigten wässerigen Nebennierenextrakten mit konzentriertem Ammoniak die wirksame Substanz in mikrokristalliner Form abgeschieden werden kann. Das Produkt war Adrenalin genannt. Und nun begann wiederum ein Rätselraten um den chemischen Ausdruck der geheimnisvollen Substanz. *Takamine* deduzierte aus seinen Analysenzahlen die Formel $C_{10}H_{15}NO_3$, *Aldrich* aus den seinigen $C_9H_{13}NO_3$. *v. Fürth*, der sich um die weitere Klärung der Lage sehr verdient gemacht hat, verglich das Adrenalin und Suprarenin miteinander und stellte die Identität beider fest. Aus den Zahlen von *Takamine*, *Aldrich* und den seinigen gelangte er zu dem Ergebnis, daß $C_9H_{13}NO_3$ der richtige Ausdruck für das aktive Prinzip der Drüse sein müsse. Durch vorsichtige Kalischmelze gelang es dann *v. Fürth*, zu einer wohldefinierten Ahausubstanz zu gelangen, welche sich als Protokatechensäure



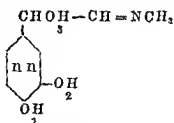
entpuppte. (Daneben hatte er, wie wir wissen, früher Brenzkatechin gefunden.) Diese Protokatechensäure hatte auch *Takamine* unter seinen Spaltprodukten vermutet, während es *v. Fürth* vorbehalten blieb, den exakten Beweis der Identität zu führen. Hiermit war nun erkannt, daß im Suprarenin (im folgenden soll der Nebennierenmark-Wirkstoff nur noch mit Suprarenin bezeichnet werden) der Atomkomplex



vorliegt. Weiter konnte *v. Fürth* feststellen, daß durch Acylierung des Suprarenin drei Säuregruppen in das Molekül eintreten. Aber bei der Deutung der Haftstellen dieser Acylgruppen kam *v. Fürth* vom richtigen Wege ab, mußte abkommen, weil seine Auffassung vom Charakter der basischen Seitenkette eine irrige war. Wohl hatte er durch Erhitzen mit Mineralsäuren Methylamin isolieren können und dadurch exakt bewiesen, daß Suprarenin eine Methylaminogruppe ($-\text{NH}-\text{CH}_3-$) enthalten müsse, doch vermutete er diese in Form einer Methylimidgruppe, da ein Teil des nach der heutigen Suprarenin-Formel in der Seitenkette vorhandenen Wasserstoffs von *v. Fürth* auf Grund von falsch gedeuteten Oxydationsercheinungen in den aromatischen Ring verlegt wurde. Würden wir die von *v. Fürth* damals als Ergebnis seiner Studien für das Suprarenin aufgestellte Formel $(\text{CH}_3)_2\text{NC}_2\text{HOH} \cdot \text{C}_6\text{H}_6(\text{OH})_2$ entsprechend unserer heutigen Kenntnis aufteilen, so ergäbe sich etwa folgendes Bild:



(heutige Formel)



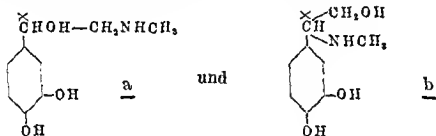
(nach *v. Fürth*)

Wie man sieht, können nach der *v. Fürth*schen Formel maximal drei Säurereste in das Molekül eintreten (bei 1, 2 und 3); nach der wahren Suprarenin-Formel dagegen vier. (Daß bei der *v. Fürth*schen Acylierungsreaktion nur drei Säurereste eintraten, lag an der chemischen Methodik.) Die von *v. Fürth* aufgestellte

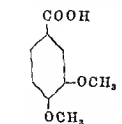
Formel schien zunächst manche Eigenschaft des Suprarenin zu erklären. Auch konnte *v. Fürth* an seinem Aeylierungsprodukt, mit welchem er Molekulargewichtsbestimmungen ausführte, zeigen, daß das Molokül ein einfaches von C_9 darstellt und keine Veranlassung bestand, das Molekulargewicht zu vervielfachen.

Wir müssen nun nochmals kurz die Arbeiten von *Abel* herühren. Wir erinnern uns, daß dieser Forscher auf Grund seiner Benzoylierungsmethode eine indolartige Formel aufgestellt hatte. Inzwischen war erkannt, daß *Abels* Produkt nicht das wahre Inkret war, sondern noch einen Benzoylrest enthielt. Jetzt subtrahierte *Abel* diesen von seiner Formel und gelangte zu $C_{10}H_{11}NO_3$ und durch weitere Korrektur zu $C_{10}H_{13}NO_3 + \frac{1}{2} H_2O$. Mit konzentrierten Säuren wollte *Abel* aus dieser Verbindung einen „alkaloidartigen“ Körper $C_{10}H_{13}NO_3$ bekommen haben. Obgleich die Arbeiten *Abels* reichlich unklar sind, behauptete er dennoch, daß seine Methoden im Gegensatz zu *Takamine*, *Aldrich* und *v. Fürth* gestatten, das Adrenalin so rein zu gewinnen, daß seine elementare Zusammensetzung festgestellt werden könne. Es war nur natürlich, daß *v. Fürth* den Irrtum der *Abelschen* Auffassungen ans Licht zog und die Formel $C_9H_{13}NO_3$ verteidigte. Jetzt erschienen zwei neue Forscher auf dem Plan, *Pauly* und *Jowett*, welche sehr wichtige Feststellungen machten. *Pauly* vermoehte die Versuchsergebnisse von *v. Fürth* richtig zu deuten. Zunächst fand er auf Grund zahlreicher Analysen mit einer besonders gereinigten, 11 mal umgelösten Substanz im Einklang mit *Aldrich* und *v. Fürth*, aber entgegen *Takamine* und besonders *Abel*, die Formel $C_9H_{13}NO_3$. Nach den im Hoechstes Werk gemachten Erfahrungen bei den Analysenausführungen besteht heute kein Zweifel mehr, daß nicht immer die ungenügende Reinheit der von den verschiedenen Forschern dargestellten Substanz den Grund für die verschiedenen Analysenresultate bildete, sondern daß die schwere Verbrennbarkeit der Substanz falsche Werte vortäuschte und die Wissenschaft lange Zeit narrrte. Als

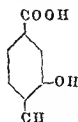
weiteren Beitrag konnte *Pauly* die optische Aktivität des Suprarenin feststellen. Dieser Fund war, wie wir noch sehen werden, von außerordentlicher Wichtigkeit sowohl im Hinblick auf die später festgestellte Abhängigkeit der physiologischen Wirkung von der Art der optischen Aktivität, als auch auf die Forschung zur Klärung der ehemisehen Konstitution. *Pauly* kritisierte nun die Auffassung *v. Fürths* in bezug auf die Methylimidgruppe (Formel S. 219) und die Verlegung des Wasserstoffs in den aromatischen Kern, da verschiedene Reaktionen, welche die Haftfestigkeit der —NH—CH_3 -Gruppe betreffen, zeigten, daß diese fester verankert ist, als es eine doppelt gebundene Methylimidgruppe sein kann. *Pauly* diskutierte 5 Konstitutionsformeln, von denen er die Wahl zwischen den beiden



ließ. Beide Formelbilder erklären die optische Aktivität, da bei ihnen das α -C-Atom (\times) asymmetrisch ist. Auch *Jowett* konnte wichtiges Material beisteuern. Er methylierte Suprarenin und unterwarf das erhaltene Produkt der Oxydation: Es entstand Trimethylamin und Veratrumsäure. Diese Reaktion erinnert an die ähnliche von *v. Fürth*, welcher durch Kalischmelze von Suprarenin Protokatechusäure erhalten hatte:



Veratrumsäure

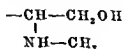


Protokatechusäure

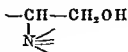
Auch *Jowett* stellte eine seinen Ergebnissen Rechnung tragende Formel auf. Er gelangte zu ganz ähnlichen Symbolen wie *Pauly*, bevorzugte aber die richtige Formel (siehe oben a). So waren also *Pauly* und *Jowett* die ersten, welche das Suprarenin chemisch richtig formulierten bzw. die richtige Konstitution bereits in Erwägung zogen.

Inzwischen hatten die Physiologen, Pharmakologen und praktischen Ärzte bereits viel Material über das reine Nebennierenhormon gesammelt. Es sei nur an die Namen *Braun*, *Benno Müller*, *Emlden*, *Abderhalden*, *v. Fürth*, *Bier*, *Läwen*, *Ellinger* u. a. erinnert. Die Lokalanaesthesie feierte Triumphe, da man die Wirkung der Anaesthetica durch die gefäßverengende Wirkung des Suprarenin verlängern und ihre Giftwirkung durch Resorptionsverminderung stark einschränken konnte. Die Bedeutung dieser Wirkungsvertiefung wurde noch evidenter, als damals die Erfindung des „Novocain“ bekannt wurde. Wegen der lokale Anaemie erzeugenden Wirkung bezeichnete man das Suprarenin scherzhaft als das „Alkaloid der *Esmarch*sehen Binde“, ein Vergleich, der natürlich hinkt, da die nach Lösen der Binde meist eintretenden Blutungen bei Verwendung von Suprarenin wegen der nach der Operation nur langsam erfolgenden Rückkehr zu normalen Zirkulationsverhältnissen nicht oder in weit geringerem Maße zu befürchten sind. Daß die beständig wachsende physiologische und therapeutische Bedeutung der Nebennieren-Hormonsnhanstanz die Chemiker noch mehr dazu anspornte, dem Naturstoff den noch darauf haftenden Schleier zu entreißen, ist zu verständlich, und so sehen wir die Meinungen der um die Anerkennung ihrer Ansicht ringenden Forscher immer hitziger aufeinanderprallen. *Abel*, der mit seiner $\frac{1}{2}$ Mol H_2O enthaltenden Formel keine Gegenliehe gefunden hatte, gab sich keineswegs mit der Ablehnung zufrieden, sondern verwies u. a. auf seine Analysenzahlen und darauf, daß sein „Epinephrinhydrat“ mit fixen Alkalien einen Geruch ähnlich dem einer Mischung von Coniin und Piperidin gehe. Ein von ihm gefundenes

Abbauprodukt gab mit Alkali einen an Pyrrol erinnernden Geruch, ähnlich wie ihn Antipyrin mit Ätzkali geschmolzen gebe (!). Und so lehnte *Abel* die Einwände *v. Fürths* und *Paulys* mit der nicht gerade überzeugenden Bemerkung ab, „die bisher gegen die Formel $C_{10}H_{13}NO_3 + \frac{1}{2}H_2O$ erhobenen Einwände enthalten auch nicht den Schatten eines Grundes, der mich veranlassen könnte, eine Änderung vorzunehmen“. Nun griff *Pauly* wieder an. Er wies die ihm von *Abel* vorgeworfene Willkür in der Benutzung der Analysenzahlen von *Takamine*, *Aldrich* und *v. Fürth* entschieden zurück und zeigte, daß die Formel $C_{10}H_{13}NO_3 + \frac{1}{2}H_2O$ von *Abel* falsch war. „Mit dieser Formel ist zugleich die auf Grund derselben eingeführte Bezeichnung ‚Epinephrinhydrat‘ aus der Literatur zu löschen.“ (Es ist keine Frage, daß die Verdienste *Abels*, des amerikanischen Pharmakologen, in der Suprarenin-Frage mehr auf physiologischem Boden lagen. So hat er später festgestellt, daß die Parotis einer auf Jamaika vorkommenden Kröte *Bufo aqua* außerordentlich reich an Suprarenin ist. Das Sekret soll einer 5 %igen Lösung entsprechen!) Die weiteren Ausführungen *Paulys* beschäftigten sich mit der Suprarenin-Formel von *v. Fürth*, der bekanntlich zwar Protokatechusaure als Abbauprodukt festgestellt hatte, aber im intakten Suprarenin-Molekül den Brenzkatechinkern als teilweise hydriert annahm. Er wies auf das Irrige dieser Vorstellung hin, da sich hydrierte Brenzkatechine vollkommen anders verhalten als nicht hydriertes Brenzkatechin und Suprarenin. Auch den Befund *Jowetts* (Veratrumssäure aus methyliertem Suprarenin) konnte *Pauly* mit Recht dahin interpretieren, daß ein im Kern hydriertes Suprarenin bei dieser energischen oxydativen Behandlung zweifellos zerstört worden wäre. Im übrigen bevorzugte *Pauly* jetzt die bereits früher diskutierte, noch irrige Suprarenin-Formel (h, S. 221) mit der Seitenkette



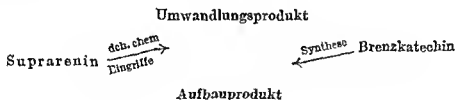
indem er sie in Parallele setzte zu „anderen Eiweißspaltkörpern, nämlich dem Cholin und dem Serin, mit denen es die Gruppierung



gemeinsam haben würde“.

Faßte man das pro und contra aller geschilderten Ansichten zusammen, so mußte man zu dem Resultat kommen, daß dem Suprarenin ziemlich sicher eine der beiden Formeln von *Pauly* und *Jowett* (S. 221) zukommen mußte, daß aber das bisherige Material zu einer Klärung der Sachlage noch nicht ausreichte. Es galt daher, weitere Argumente für die eine oder andere Formel zu finden.

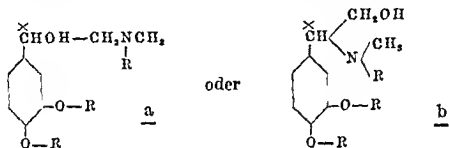
Die dahinzielende Forschung gabelte sich jetzt in zwei Richtungen. Ähnlich der Anlegung eines Tunnels durch Bohrung von zwei Seiten aus und Vereinigen beider Wege, versuchte man, vom Suprarenin ausgehend, dieses durch vorsichtige Eingriffe in einen Körper umzuwandeln, auf welchen man von einer anderen Seite, nämlich von Brenzkatechin ausgehend, durch Synthese zu stoßen hoffte:



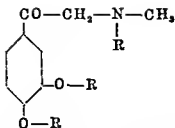
Waren Umwandlungs- und Aufbauprodukt identisch, so war die Konstitution des Suprarenin weitgehend geklärt. Seine Synthese war damit natürlich nicht gegeben, wenngleich die Möglichkeit hierzu in greifbare Nähe rückte.

Bei dieser nun zu schildernden Arbeit haben sich folgende Chemiker verdient gemacht, welche unabhängig von einander und mit verschiedenen Methoden die Aufklärung hrachten: *E. Friedmann*, die Chemiker der Farbwerke in Hoechst *F. Stolz* und Mitarbeiter und der Engländer *Dakin*. Wir wollen die Wege kurz schildern:

1. *Friedmann*: Um zu einem für die Konstitutionsaufklärung verwendbaren Umwandlungsprodukt zu gelangen, deckte er die verwundbaren Stellen des Suprarenin ähnlich *v. Färth* durch Acylieren ab. Das Produkt war alkali- und säureunlöslich, also mußten die Acyle an die phenolischen OH-Gruppen und den N getreten sein, unter Benutzung der beiden *Paulsen* Formeln mußten der Verbindung eine der beiden Symbole

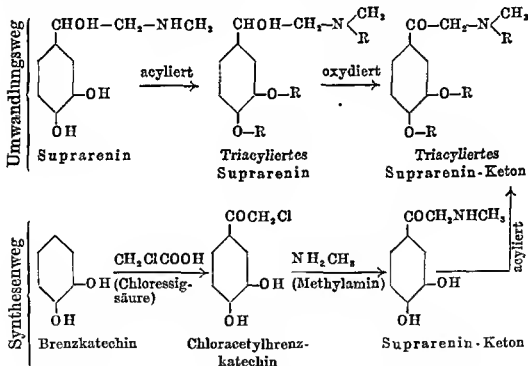


zukommen. (R = Acyl. Die asymmetrischen C-Atome sind mit × bezeichnet.) Beide Verbindungen enthalten das unversehrte asymmetrische C-Atom. Das Produkt mußte also noch optisch aktiv sein. Dies war in der Tat der Fall. Weiter: Würde man jetzt diese Substanz einer Oxydation unterwerfen, so wäre folgendes zu erwarten: Erfahrungsgemäß setzt die Oxydation da ein, wo bereits hydroxylartiger Sauerstoff vorhanden ist, also in unserem Falle an dem die OH-Gruppe tragenden C-Atom. Leitete sich nun Suprarenin von Formel a ab, so mußte es durch Oxydation in ein Keton übergehen, also —CH—OH— zu —CO— werden. Damit mußte aber zugleich das Asymmetriezentrum zerstört werden, das Oxydationsprodukt durfte nicht mehr optisch aktiv sein. Ganz anders bei b. In diesem Falle mußte die Alkoholgruppe in einen Aldehyd, eventuell in eine Säure übergehen, dabei aber das asymmetrische C-Atom intakt bleiben. Das chemische Experiment ließ sich durchführen, das Ergebnis dieser Arbeit war: Das Oxydationsprodukt war optisch inaktiv und reagierte mit Ketonreagenzien positiv. Es mußte also die Formel:



R = Acyl

haben und Suprarenin demnach entsprechen. Obgleich das Ergebnis einwandfrei war und bereits Schlüsse auf die Konstitution des Suprarenin zuließ, ging *Friedmann* auch noch den Synthesenweg (der besseren Übersicht wegen sollen Umwandlungs- und Synthesenweg gemäß obigem Schema untereinander gestellt werden):

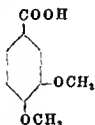


Wie man sieht, muß das synthetische Produkt mit dem Produkt der Suprarenin-Umwandlung identisch sein. Die chemische Ausführung des Planes bewies seine Richtigkeit: Beide Produkte waren identisch. Damit war die Formel des Snprarenin im Sinne unserer hentigen Auffassung so gut wie geklärt.

2. *Stolz*: Die bisher referierten Arbeiten stützen sich auf die *Stolz* Publikationen. Die nun zu schildernden

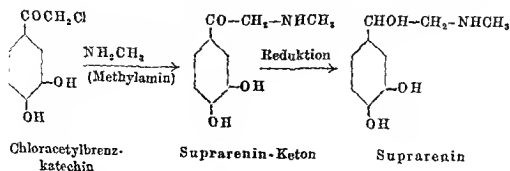
Arbeiten von *Stolz* und Mitarbeitern, welche in dem Forschungslaboratorium der Hoechster Farbwerke angeführt wurden, konnten erst einige Zeit nach ihrem Abschluß der Öffentlichkeit zugänglich gemacht werden, da sie zur Sicherung einer ungestörten Bearbeitung des Gebietes geheim gehalten werden mußten. Infolgedessen konnte auch das Hoechster Werk zu vielen Fragen erst post festum öffentlich Stellung nehmen, obwohl es schon längst wichtige Teile der Totalsynthese in der Tasche, d. h. beim deutschen Patentamt eingereicht hatte.

Stolz ging folgendermaßen vor: Ebenso wie *Jowett* methylierte er Suprarenin und oxydierte das erhaltene Produkt, wobei er Veratrumsäure



erhielt. Dann führte *Stolz* ähnlich wie *v. Fürth* durch einen Aoylierungsprozeß bei alkalischer Reaktion 3 Acylgruppen in das Suprarenin ein und stellte ebenso wie *Pauly* für das Suprarenin zwei Formeln auf (S. 221). Beide Formeln erklären die Entstehung von Veratrumsäure und ferner das Auftreten von Trimethylamin beim Behandeln des methylierten Suprarenin mit Alkali.

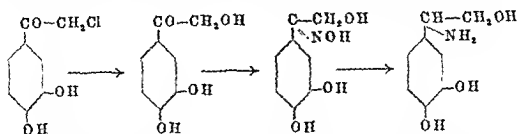
Vor allem aber schritt *Stolz* zur Synthese und hoffte in zwei Reaktionsphasen direkt zum Suprarenin gelangen zu können:



Wie man sieht, ging *Stolz* ebenso vor wie *Friedmann* und benutzte zunächst eine Reaktion von *Dzierzowski*, welcher bereits Chloracetobrenzkatechin mit verschiedenen Aminen umgesetzt hatte, und gelangte zum Suprarenin-Keton. So erhielten beide Forscher, *Friedmann* wie *Stolz*, ohne Kenntnis von der Arbeit des andern zu haben, das gleiche wichtige, mit dem Suprarenin genetisch verknüpfte Aminoketon. Dies ist um so bemerkenswerter, als auch bereits der erwähnte *Dzierzowski* obige Reaktion studiert hatte und zu dem Ergebnis gelangt war, daß die Partner nur ein Salz bilden, aber nicht weiter miteinander reagieren. Der Grund des Mißlingens und Gelingens war nur — die Zeitdauer. Hätten sich *Stolz* und *Friedmann* durch die Angabe *Dzierzowskis* von ihren Versuchen abhalten lassen, so wäre die Aufklärung und Synthese des Suprarenin wohl noch lange nicht in Erscheinung getreten.

Das synthetisierte Suprarenin-Keton wurde von *Loewi* und *H. Meyer* pharmakologisch untersucht: Die Wirkung war die gleiche wie beim Suprarenin, nur quantitativ geringer. Das Suprarenin-Keton wurde wegen seiner länger anhaltenden blutstillenden Wirkung unter dem Namen „Stryphon“ (für Gaze, Watte usw.) eingeführt. Außer dem Suprarenin-Keton wurden von *Stolz* noch einige Homologe dargestellt (statt $-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{NH}_2$ und $-\text{NH}-\text{C}_2\text{H}_5$; letztere Verbindung wurde unter dem Namen „Homorenin“ auf den Arzneimittelmarkt gebracht, während das Reduktionsprodukt der ersteren unter dem Namen „Arterenol“ eingeführt wurde. Die Verbindungen haben heute nur noch sekundäre Bedeutung). Interessant daran war der Umstand, daß alle diese Ketone physiologisch gleichartig wirken und daß der Wirkungsgrad des primären Ketonamins auch in quantitativer Beziehung dem des Suprarenin-Ketons gleichkommt. Auf Grund dieses Sachverhaltes konnte *Stolz* jetzt nach folgendem Plan die Frage nach der Stellung der OH- und $\text{NH}-\text{CH}_3$ -Gruppe an der Seitenkette angehen: Im Chloracetobrenzkatechin Austausch des Cl gegen OH, Umsetzen des

entstandenen Oxyketons mit Hydroxylamin und Reduktion des hierbei entstehenden Oxims zu dem entsprechenden Aminoalkohol:



Wie man sieht, entspricht der entstandene Aminoalkohol der Formel b (siehe Pauly, S. 221), nur mit dem Unterschied, daß die Aminogruppe primär ist. Dieser kleine Unterschied mußte nach den obigen bei den drei Aminoketonen in physiologischer Beziehung gemachten Feststellungen obno Bedeutung sein, so daß man das Experiment, falls es praktisch zu lösen war, so deuten konnte: Unterscheidet sich die Wirkung des neuen Aminoalkohols prinzipiell von der des Suprarenin, so können die beiden Verbindungen nicht dem gleichen Typ angehören, sondern müssen konstitutiv verschieden sein. Damit wäre für das Suprarenin die Formel b sicher ausgeschlossen und a höchstwahrscheinlich gemacht (siehe S. 221). Die chemische Ausführung dieses Experimentes gelang. Die Wirkung des Aminoalkohols erwies sich als eine gänzlich andere: die dem Suprarenin eigene Blutdrucksteigerung fehlte der Verbindung. Damit schien die Richtigkeit der oben skizzierten Suprarenin-Synthese (S. 227) verbürgt. Es folgte der nächste Schritt, die Anlagerung von Wasserstoff an das Keton. Reduktionen von Ketonen zu den zugehörigen Alkoholen waren zu der damaligen Zeit genügend bekannt, aber Aminoketone und Aminoalkohole mit benachbarten phenolischen OH -Gruppen sind ebenso wie ihre Reduktionsprodukte sehr empfindliche Substanzen; ob also die Reaktion glücken würde und selbst nach erfolgter Reduktion geglückt war, darüber war man eine Zeit lang im Unklaren. Manche Reduktionsmittel versagten und diejenigen, welche im gewünschten

Sinno reduzierten, wie Natriumamalgam oder aktiviertes Aluminium, zerstörten einen Teil der Substanz. Man hatte also in seinem Reduktionsprodukt noch Nebenkörper, die es zu entfernen galt. Trotzdem wurde die wichtige Feststellung gemacht: Mit der Reduktion war eine bedeutende Wirkungssteigerung eingetreten (*Loewi und Meyer und Biberfeld*). Nach vieler Mühe gelang es schließlich, das Reduktionsprodukt, also die Alkoholase, auch in reiner Form zu fassen und einem exakten chemischen und pharmakologischen Vergleich mit Suprarenin zu unterwerfen. War das Produkt nun identisch mit dem natürlichen Nebennierenmark-Hormon? Die Analyse ergab die gleiche chemische Zusammensetzung wie Suprarenin, die pharmakologische Untersuchung qualitativ völlige Übereinstimmung der Wirkung beider Körper: Blutdruckwirkung, diuretische Wirkung, Zuckerausscheidung und Pupillenerweiterung. Und doch war das Produkt mit Suprarenin nicht identisch, weil die Wirkungsstärke des synthetischen Produktes nicht der des natürlichen Stoffes gleichzusetzen war. Nun ist das natürliche Hormon, wie wir sahen, optisch aktiv, das synthetische Produkt dagegen war inaktiv. Zur völligen Identität gehörte also die optische Aktivität. Man mußte demnach versuchen, die Racemverbindung in die optisch aktive Verbindung überzuführen. Und die Aussicht auf ein Gelingen? *Stolz*, welcher seine bisherigen synthetischen Arbeiten bereits im Jahre 1903 zum Patent angemeldet hatte und darüber auf der Naturforscher-Versammlung in Stuttgart vortrug, wies auf die großen Schwierigkeiten der optischen Spaltungsarbeiten hin, da die Salze des Suprarenin keine Neigung zum Kristallisieren zeigten. Kristallisierfähigkeit ist aber für diese Arbeit eine unerläßliche Bedingung. Daß die Hoechst Synthese übrigens keineswegs alle Fachleute von der Richtigkeit des eingeschlagenen Weges überzeugte, geht aus einer Publikation von *Dakin* im Jahre 1905 hervor, der ebenso wie *Stolz*, aber unabhängig von ihm, die gleiche Synthese ausgeführt hatte und schlußfolgerte, daß er die

angegehene Konstitution der synthetisierten Base nicht für gesichert halte.

Dieser Zweifel war dadurch entstanden, daß das synthetisierte Racemprodukt und das natürliche Hormon kleine Unterschiede in chemischer und physikalischer Beziehung aufweisen. Abgesehen von der optischen Inaktivität zeigt das Racemat einen niedrigeren Schmelzpunkt und bildet im Gegensatz zum Naturprodukt einige gut kristallisierende Salze.

So hatte man also einen Höhepunkt erreicht, von dem man den Gipfel in nächster Nähe erblicken konnte, aber erreicht war dieser Gipfel noch keineswegs. Es sollten noch viele Jahre emsiger Arbeit vergehen, bis die Entscheidung endgültig fiel. Die Schwierigkeit bestand, wie wir schon sahen, an der außerordentlich schlechten Kristallisierbarkeit der Salze des Suprarenin. Und doch durfte für diesen letzten Schritt keine Mühe gescheut werden, denn es galt nicht nur den Schlußstrich der Synthese zu ziehen und so die Richtigkeit der bisherigen Deduktionen zu erhärten, sondern damit auch zugleich Einblicke zu erhalten in die Relation von optischer und physiologischer Wirkung optischer Antipoden, hatte doch *Cushny* gezeigt, daß das natürliche Hormon doppelt so stark auf den Blutdruck wirkt als das synthetische Racemat. Möglicherweise war der andere Antipode, nämlich das in der Racemverbindung neben dem l-Isomeren enthaltene d-Isomere, unwirksam. Viele Jahre später gelang es schließlich *Flächer* im Stolzschens Laboratorium des Hoechst Werkes, vom natürlichen Hormon ein saures d-weinsaures Salz in kristallisierter Form zu erhalten. Mit dieser Substanz konnte er dann das weinsaure Racemat animpfen, worauf sich die Spaltung in die l- und d-Suprarenin-Bitartrate vollzog. Durch mehrfaches Umlösen der isolierten l-Verbindung und Ausfällen der Base mit Ammoniak wurde nun eine Substanz erhalten, welche in physikalischer und chemischer Hinsicht mit dem natürlichen Suprarenin völlig identisch war. *Abderhalden* und Mitarbeiter verglichen das synthetisierte Suprarenin mit dem

natürlichen Hormon und fanden nun auch in pharmakologischer Beziehung gänzliche Identität der Wirkungsbilder. Ferner konnten diese Forscher in Übereinstimmung mit *Cushny* zeigen, daß die d-Verbindung bedeutend weniger blutdruckwirksam ist als der l-Antipode, nämlich im ungefähren Verhältnis von 1:15. Auf weitere interessante Vergleichsresultate kann hier nicht eingegangen werden.

Damit hatte die Totalsynthese des Suprarenin ihren Abschluß gefunden. Vergleicht man die für die einzelnen Phasen der Synthese aufgewendete Zeitdauer, so sieht man, daß der Aufbau zum Aminoketon und dessen Reduktion zum Racem-Suprarenin, sowie ein großer Teil der Aufklärungsarbeit innerhalb einer kurzen Zeitspanne im Hoechst-Werk durchgeführt wurde. (Die Patentanmeldungen zur Darstellung dieser Körper wurden am 15. August und 25. Dezember 1903 eingereicht.) Dagegen vergingen noch 5 Jahre, ehe die Gewinnung des optisch aktiven Suprarenin aus dem Racemat zum Patent angemeldet werden konnte (1. August 1908).

Die unzähligen Publikationen der folgenden Zeit über den Wirkungscharakter des Suprarenin, über seine mutmaßliche Entstehung im Organismus, und ferner erfolgreiche Arbeiten, welche bezweckten, durch Synthese ähnlicher Stoffe physiologisch unerwünschte Wirkungskomponenten des Suprarenin auszuschalten, können an dieser Stelle keine Berücksichtigung finden, da sie nicht mehr zu unserem Thema gehören.

Obgleich eine große Zahl von Forschern, wie wir sahen, Beiträge für die Konstitutionsermittlung und Synthese des Suprarenin geliefert haben, blieb es dem Hoechst-Werk vorbehalten, die Totalsynthese durchzuführen und so zum ersten Male ein Hormon synthetisch darzustellen.

Über Farbstoffe und Methylenblau in medizinisch-chemischer Forschung

DR. AUGUST WINGLER

früherer Mitarbeiter im Chemischen Forschungslaboratorium der I. O. Farbenindustrie AG,
Werk Elberfeld

In der Erforschung infektiöser Krankheiten haben die synthetischen, organischen Farbstoffe eine hervorragende Rolle gespielt. Bakterien und Protozoen als Erreger von Krankheiten wurden erkannt unter Zuhilfenahme von solchen Farbstoffen, die die Mikroorganismen färben, um sie für die mikroskopische Untersuchung differenzierbar zu machen. Diese von C. Weigert 1875 zuerst an Schnittpräparaten vorgenommene Färbung von Bakterien mit Anilinfarbstoffen führte durch Robert Koch zu der heute noch in praktisch derselben Form gebräuchten Methode des Färbens von Bakterienpräparaten und fand bald ihre Anwendung zur färberischen Darstellung auch von Protozoen.

Während so diese sichtliche Beziehung zwischen Farbstoff und Krankheitserreger zu der Hoffnung berechtigte, daß auch im menschlichen Körper sich der Farbstoff mit dem Erreger vereinige und dann seine oftmals in vitro nachgewiesene abtötende oder entwicklungshemmende Wirkung entfalte, hat die praktische Erfahrung gezeigt, daß diese erwartete Wirkung in den meisten Fällen entweder gar nicht eintrat oder praktisch ungenügend war. Von der gewaltigen Zahl synthetischer organischer Farbstoffe, die uns die letzten Jahrzehnte gebracht haben, konnten daher nur wenige Eingang in den Arzneischatz finden und zu Bedeutung gelangen. Dies waren in der Hauptsache Farbstoffe mit starken antiseptischen Eigenschaften, die vor allem während des Krieges große Dienste in der Behandlung von Infektionen an der Oberfläche leisteten. Heute spielen von den Farbstoffen sowohl als Antiseptica als auch in der Therapie infektiöser Krankheiten nur Derivate des Akridins eine bedeutende Rolle, und eine gewisse praktische Bedeutung hat heute

noch das Methylblau. In der Medizin haben die Farbstoffe noch weitgehende Anwendung in der histologischen Technik gefunden und ferner zur Farbstoffdiagnostik, wo die Ausscheidungsverhältnisse eines in den menschlichen Körper eingebrachten Farbstoffes wertvolle Aufschlüsse geben über die Funktion der Ausscheidungsorgane.

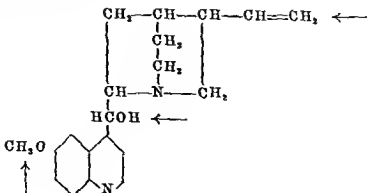
Während die Farbstoffe so in der Erkenntnis von Krankheitserregern und Krankheiten und in deren Behandlung von Bedeutung wurden, haben sie auch in hervorragender Weise bei der Synthese von Heilmitteln richtungsgewirkt. Bei seinen Untersuchungen über die Wirkung organischer Verbindungen auf die durch Protozoen hervorgerufenen Krankheiten wandte sich *Ehrlich* zuerst den organischen Farbstoffen zu. Er fand bald Farbstoffe, die im Tierkörper eine definitive abtötende Wirkung gegen Trypanosomeninfektionen zeigten. Obwohl keiner der wirksamen Farbstoffe praktische Erfolge in der Therapie erlangen konnte, waren damit doch die so wichtigen ersten experimentellen Grundlagen der Chemotherapie geschaffen, die *Ehrlich* schließlich zu den Arsenverbindungen und zum Salvarsan führten.

Unter den Farbstoffen, die in den Forschungen der Medizin und Chemie herangezogen wurden, spielte das von *Caro* 1876 erstmals hergestellte Methylblau oftmals eine äußerst fruchtbringende Rolle. *Robert Koch* hatte diesen Farbstoff in seiner ursprünglichen Methode zur färbereischen Darstellung von Tuberkelbazillen benutzt. Die ersten vitalen Nervenfärbungen durch *Ehrlich* wurden mit Methylblau vorgenommen. Im Jahre 1891 im Verlaufe seiner Farbstoffuntersuchungen stellte *Ehrlich* fest, daß sich das Methylblau zur färbereischen Darstellung der Malariaplasmodien besonders gut eignet. Die durch diese Beobachtungen bestärkte Vorstellung, daß eine nahe Beziehung zwischen Parasit und Farbstoff bestehe, veranlaßte ihn damals zusammen mit *Guttmann*, den Farbstoff am malariekranken Menschen zu erproben. Tatsächlich gelang es auch, mit Methylblau Fälle von Malaria tertiana günstig

zu beeinflussen und auch zu heilen, obwohl eine Färbung der Malariaparasiten im Blute des Menschen sichtbar nicht festzustellen war. Seit dieser Zeit ist Methylenblau in vielen Fällen bei Malaria angewandt worden, aber seine Wirkung ist in der Literatur stark umstritten. Eindeutig scheint dem Farbstoff eine Wirkung nur gegen Malaria quartana zuzukommen und wertvolle Dienste scheint er geleistet zu haben in Fällen von Chininresistenz. Einen gleichwertigen Platz neben Chinin konnte sich aber Methylenblau in der Malariatherapie nicht erwerben.

In der gemeinsamen Arbeit von *Schulemann, Schönhöfer* und *Wingler* zusammen mit *Roehl* 1924 im Elberfelder Laboratorium gingen die Versuche zur Herstellung synthetischer Malariamittel vom Methylenblau aus. Nachdem die früheren, auch im Elberfelder Laboratorium unternommenen Versuche, durch Änderung des Chininmoleküls und durch synthetischen Aufbau von Chinolinverbindungen zu neuen wirksamen Verbindungen zu gelangen, ohne Erfolg waren, lag es nahe, einmal das Molekül des Methylenblaus, eines Farbstoffes, der schon in Beziehung zur Malaria stand, zum Ausgangspunkt der Forschung nach synthetischen Malariamitteln zu machen. In der von *Roehl* ausgearbeiteten Methode bei der Vogel malaria zeigte das Methylenblau nur eine geringe entwicklungshemmende Wirkung, die auch schon von *Marks* 1914 mit einer anderen Methode an der Infektion des Kanarienvogels mit *Proteosoma praecox*, dem Erreger der Vogel malaria, beobachtet worden war.

Im Molekül des Chinins



noch das Methylenblau. In der Medizin haben die Farbstoffe noch weitgehende Anwendung in der histologischen Technik gefunden und ferner zur Farbstoffdiagnostik, wo die Ausscheidungsverhältnisse eines in den menschlichen Körper eingebrachten Farbstoffes wertvolle Aufschlüsse geben über die Funktion der Ausscheidungsorgane.

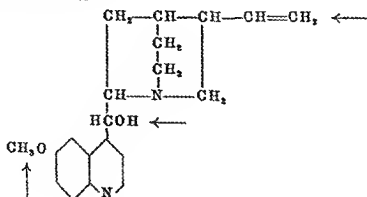
Während die Farbstoffe so in der Erkenntnis von Krankheitserregern und Krankheiten und in deren Behandlung von Bedeutung wurden, haben sie auch in hervorragender Weise bei der Synthese von Heilmitteln richtunggehend gewirkt. Bei seinen Untersuchungen über die Wirkung organischer Verbindungen auf die durch Protozoen hervorgerufenen Krankheiten wandte sich *Ehrlich* zuerst den organischen Farbstoffen zu. Er fand bald Farbstoffe, die im Tierkörper eine definitive abtötende Wirkung gegen Trypanosomeninfektionen zeigten. Obwohl keiner der wirksamen Farbstoffe praktische Erfolge in der Therapie erlangen konnte, waren damit doch die so wichtigen ersten experimentellen Grundlagen der Chemotherapie geschaffen, die *Ehrlich* schließlich zu den Arsenverbindungen und zum Salvarsan führten.

Unter den Farbstoffen, die in den Forschungen der Medizin und Chemie herangezogen wurden, spielte das von *Caro* 1876 erstmals hergestellte Methylenblau oftmals eine äußerst fruchtbringende Rolle. *Robert Koch* hatte diesen Farbstoff in seiner ursprünglichen Methode zur färbereischen Darstellung von Tuberkelbazillen benutzt. Die ersten vitalen Nervenfärbungen durch *Ehrlich* wurden mit Methylenblau vorgenommen. Im Jahre 1891 im Verlaufe seiner Farbstoffuntersuchungen stellte *Ehrlich* fest, daß sich das Methylenblau zur färbereischen Darstellung der Malariaplasmodien besonders gut eignet. Die durch diese Beobachtungen bestärkte Vorstellung, daß eine nahe Beziehung zwischen Parasit und Farbstoff bestehe, veranlaßte ihn damals zusammen mit *Guttmann*, den Farbstoff am malariekranken Menschen zu erproben. Tatsächlich gelang es auch, mit Methylenblau Fälle von Malaria tertiana günstig

zu beeinflussen und auch zu heilen, obwohl eine Färbung der Malariaparasiten im Blute des Menschen siehthar nicht festzustellen war. Seit dieser Zeit ist Methylenblau in vielen Fällen bei Malaria angewandt worden, aber seine Wirkung ist in der Literatur stark umstritten. Eindentig scheint dem Farbstoff eine Wirkung nur gegen Malaria quartana zuzukommen und wertvolle Dienste scheint er geleistet zu haben in Fällen von Chininresistenz. Einen gleichwertigen Platz neben Chinin konnte sich aber Methylenblau in der Malariatherapie nicht erwerben.

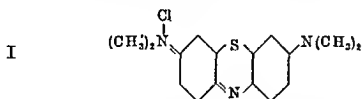
In der gemeinsamen Arbeit von *Schulemann, Schönhöfer* und *Wingler* zusammen mit *Roehl* 1924 im Elberfelder Laboratorium gingen die Versuche zur Herstellung synthetischer Malariamittel vom Methylenblau aus. Nachdem die früheren, auch im Elberfelder Laboratorium unternommenen Versuche, durch Änderung des Chininmoleküls und durch synthetischen Aufbau von Chinolinverbindungen zu neuen wirksamen Verbindungen zu gelangen, ohne Erfolg waren, lag es nahe, einmal das Molekül des Methylenblaus, eines Farbstoffes, der schon in Beziehung zur Malaria stand, zum Ausgangspunkt der Forschung nach synthetischen Malariamitteln zu machen. In der von *Roehl* ausgearbeiteten Methode bei der Vogel malaria zeigte das Methylenblau nur eine geringe entwicklungshemmende Wirkung, die auch schon von *Marks* 1914 mit einer anderen Methode an der Infektion des Kanarienvogels mit *Proteosoma praecox*, dem Erreger der Vogel malaria, beobachtet worden war.

Im Molekül des Chinins

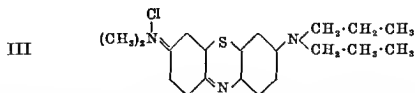
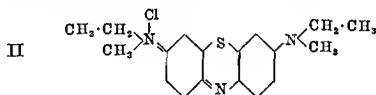


waren chemische Eingriffe von verschiedenen Forschern (*Morgenroth, Giemsa, Weisse und Tropp*) an den mit † bezeichneten Stellen erfolgt, ohne jedoch bei der Malaria zu einem Ergebnis zu führen. Auch die Einführung von basischen Gruppen in das Chininmolekül hatte zu keinerlei Steigerung der Malariawirkung geführt. (*F. Schönhöfer, Medizin und Chemie, Bd. I.*)

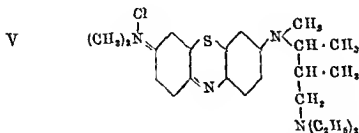
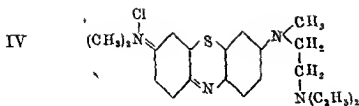
Im Molekül des Methylenblaus (I)



erfolgte nun der Eingriff an der aromatischen Aminogruppe, die im Methylenblau beiderseits mit je zwei Methylgruppen besetzt ist. Die ersten Versuche zielten darauf, durch Einführung längerer Alkylreste in die aromatischen Aminogruppen an Stelle der Methylgruppen eine Steigerung der Wirkung zu erreichen. Bei der Auswertung am malarieinfizierten Kanarienvogel waren auch Anzeichen einer geringen Wirkungssteigerung vorhanden bei Verbindungen der Formeln II und III.



Der therapeutische Index dieser Verbindungen, das Verhältnis zwischen wirksamer und erträglicher Dosis war aber noch sehr gering und kaum höher als 1:1. Ein weit größerer Fortschritt wurde erzielt durch Einführung von basischen Alkylgruppen in die aromatische Aminogruppe des Methylenblaus.

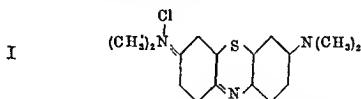


Die Verbindung der Formel IV brachte zwar nur eine geringe absolute Wirkungssteigerung, dafür aber eine Senkung der Giftigkeit, also einen günstigeren therapeutischen Index, der bei dieser Verbindung etwa 1:2 betrug. Die Verbindung der Formel V hatte eine verlängerte basische Alkylgruppe und hier war eine starke Wirkungssteigerung erzielt worden bei einem therapeutischen Index von fast 1:8.

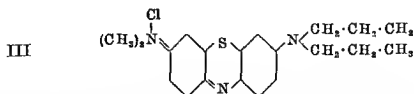
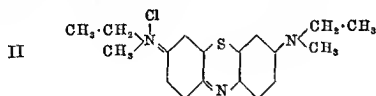
Die Studien am Molekül des Methylenblaus, die an einer Reihe den obigen ähnlicher Verbindungen durchgeführt wurden, hatten somit zu der Erkenntnis geführt, daß die Einführung einer basischen Alkylgruppe in die Aminogruppe des Kernmoleküls eine Wirkungssteigerung bei Methylenblau hervorrief, und daß eine gewisse Beziehung zwischen Wirkungsstärke, Art und Aufbau der basischen Alkylgruppen bestand. Die Übertragung dieser hier gewonnenen Erfahrungen führte bald zu anderen den Farbstoffen zugrunde liegenden Ringsystemen, wie zum Triphenylmethan, zu Azinen und Oxazinen, zum Akridin und schließlich im Molekül des Chinolins zu hochwirksamen Verbindungen ohne Farbstoffcharakter. In der Chinolinreihe führte dieser vom Methylenblau ausgegangene Weg schließlich zum Plasmechin (VI) mit einem Index von 1:30 und in der Akridinreihe neuerdings zu dem von *Mauss* und *Mietzsch* aufgefundenen Atebrin (VII), dessen spezifische Wirkung gegen die

waren chemische Eingriffe von verschiedenen Forschern (*Morgenroth, Giemsa, Weisse und Tropp*) an den mit \uparrow bezeichneten Stellen erfolgt, ohne jedoch bei der Malaria zu einem Ergebnis zu führen. Auch die Einführung von basischen Gruppen in das Chininmolekül hatte zu keinerlei Steigerung der Malariawirkung geführt. (*F. Schönhofer, Medizin und Chemie, Bd. I.*)

Im Molekül des Methylenblaus (I)



erfolgte nun der Eingriff an der aromatischen Aminogruppe, die im Methylenblau beiderseits mit je zwei Methylgruppen besetzt ist. Die ersten Versuche zielten darauf, durch Einführung längerer Alkylreste in die aromatischen Aminogruppen an Stelle der Methylgruppen eine Steigerung der Wirkung zu erreichen. Bei der Auswertung am malarieinfizierten Kanarienvogel waren auch Anzeichen einer geringen Wirkungssteigerung vorhanden bei Verbindungen der Formeln II und III.



Der therapeutische Index dieser Verbindungen, das Verhältnis zwischen wirksamer und erträglicher Dosis war aber noch sehr gering und kaum höher als 1:1. Ein weit größerer Fortschritt wurde erzielt durch Einführung von basischen Alkylgruppen in die aromatische Aminogruppe des Methylenblaus.

Spasmolytisch wirkende Verbindungen der Chinolinreihe

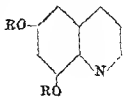
DR. FRITZ SCHÖNHÖFER

Aus dem Chemischen Forschungslaboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

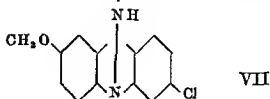
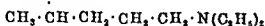
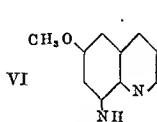
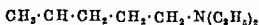
Chemische Konstitution und pharmakologische Wirkung lassen nur selten einen gesetzmäßigen Zusammenhang erkennen. Alle pharmakologischen Voraussagen auf Grund chemischer Formeln müssen deshalb kritisch bewertet werden. Oft findet man genau das Gegenteil der erwarteten Wirkung, und Enttäuschungen bleiben trotz sorgfältigster Überlegungen nicht erspart. Die physikalischen Eigenschaften einer Substanz lassen sich an Hand der chemischen Formel nur ungenügend erkennen. Diese sind aber mitbestimmend für die pharmakologische Wirkung, da Resorption, Verteilung und Absorption einer chemischen Substanz weitgehend für den Wirkungsmechanismus im tierischen oder menschlichen Körper verantwortlich zu machen sind.

Um so erfreulicher ist es, daß auch in dieser Beziehung gewisse Ausnahmen vorkommen können, die dem Chemiker die systematische Weiterarbeit wesentlich erleichtern. Große Erfahrung und eingehendes Studium, das sich oft über Jahre hinzieht, sind hierfür erforderlich. Ein Beispiel solcher Art ist die Chemie des Plasmochin und seiner Derivate. Bei vielen Substanzen dieser Reihe konnte auf Grund der chemischen Konstitution eine Wirkung gegen Malaria parasiten vorausgesagt werden, die durch den chemotherapeutischen Versuch bestätigt werden konnte und auf einer weitgehenden Gesetzmäßigkeit beruhte. Vorliegende Arbeit soll an einem anderen Beispiele eine solche Gesetzmäßigkeit näher erläutern.

Eichholtz fand 1926 am Darm in situ (Kaninchen) und am isolierten Darm eine deutliche spasmolytische Wirkung der von Mitzsch und Klös dargestellten 6,8-Dialkoxychinolinverbindungen:



ungeschlechtlichen Erreger der Malaria *Kikuth* durch seine neuartige Methode an der Hämoproteusinfektion der Reisfinken feststellen konnte.

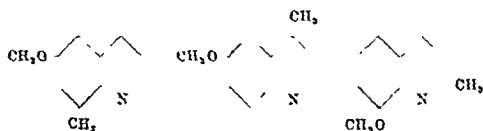


Die in ihrem Anfang auf *Ehrlich* zurückgehende Idee, die spezifische Affinität von Farbstoffen zu bestimmten Geweben und bestimmten Mikroorganismen in der Chemotherapie nutzbar zu machen und die Weiterentwicklung dieser Idee durch Einführung von neuen Gruppen in das Farbstoffmolekül zu wirksameren Stoffen zu gelangen, hat als Arbeitshypothese sehr fruchtbringend und anregend gewirkt. Die Affinität des Farbstoffes zur Zellensubstanz ist jedoch sicherlich nicht eine besondere Funktion des Farbstoffes als solchem. Sie wird durch seine färberische Eigenschaft nur sichtbar und kann ungefärbten Verbindungen ebenso eigen sein. Die Affinität wird also auch beim Farbstoff in erster Linie vom chemischen Aufbau und damit vom chemischen und physikalischen Verhalten abhängig sein und braucht in keiner Beziehung zur Wirkung zu stehen. Die rein färberischen Eigenschaften des Farbstoffes sind deshalb für die Forschung der modernen Chemotherapie nebensächlich geworden, vielmehr sucht sie wie bei farblosen Verbindungen auch hier sich den chemischen Aufbau der Farbstoffe zunutze zu machen, um unter Zuhilfenahme von Empirie und Hypothese in systematischer chemischer Arbeit zu neuen wirksamen Verbindungen zu gelangen. Die Erfolge und Erfahrungen der Farbstoffchemie werden so auch künftig der chemisch-medizinischen Forschung von großem Nutzen sein können.

Immer mußte die nächste Stelle in diesem Ringsystem übersprungen werden.

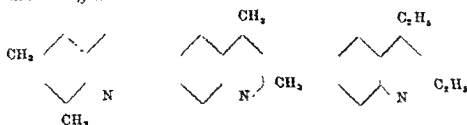
Es muß jedoch ausdrücklich darauf hingewiesen werden, daß diese Gesetzmäßigkeit keine Geltung für die Isochinoline besitzt, bei denen ortho-substituierte Dialkoxyverbindungen spasmolytische Wirkungen aufweisen.

II. Weiterhin konnte eine Gesetzmäßigkeit zwischen Konstitution und Spasmolyse immer dann festgestellt werden, wenn in diesen Chinolinen ein Alkoxyrest durch einen Alkylrest ersetzt wurde, wie an folgenden Beispielen gezeigt werden kann:



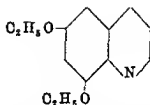
Die spasmolytische Wirkung bei diesen Substanzen ist genau so ausgeprägt wie bei den Dialkoxyverbindungen. Selbst in der Wirkungsstärke ist ein wesentlicher Unterschied nicht festzustellen.

III. Schließlich konnte ich zeigen, daß auch die Dialkylchinolinverbindungen, die in meta-Stellung zueinander stehen, diese spasmolytische Wirkung aufweisen, wie z. B. folgende Formeln zeigen:



Der einzige Unterschied bei diesen Verbindungen besteht nur darin, daß sie im großen und ganzen schwächer wirksam sind als die beiden vorher geschilderten Typen. Wesentlich ist auch hier wiederum die meta-Stellung. Gleichgültig ist es, ob die Substituenten im Pyridin- oder im Benzolanteil des Chinolinmoleküls stehen.

Das zu dieser Gruppe gehörende Präparat

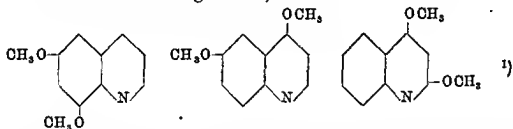


(P 330) hatte sich bei der klinischen Prüfung in dieser Richtung bewährt.

Bereits früher hatte ich eine Reihe von Alkoxychinolinverbindungen hergestellt, die jedoch keine spasmolytische Wirkung hatten. Es war für mich deshalb von besonderem Interesse, festzustellen, ob diese Eigenschaft an die 6,8-Stellung dieser Chinolinäther gebunden ist.

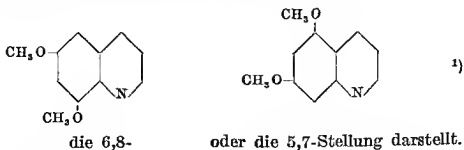
Diese Untersuchungen hatten sich über viele Jahre hingezogen. Zahlreiche Verbindungen mußten pharmakologisch (*Eichholtz, Weese, Hecht*) untersucht werden, bis es gelang, eine Gesetzmäßigkeit aufzufinden, die in verschiedener Richtung deutlich erkennbar ist.

I. Alle Dialkoxychinolinverbindungen, deren Substituenten in meta-Stellung stehen, wie z. B.



haben eine dem P 330 entsprechende spasmolytische Wirkung. Bei der Bearbeitung dieser Frage wurden in der Hauptsache Dialkoxyverbindungen untersucht, welche die niederen Glieder der aliphatischen Reihe umfassen.

Weiterhin wurde gefunden, daß es gleichgültig ist, ob man



¹⁾ Diese Verbindungen wurden von *Andersag* und *Pitzer* dargestellt.

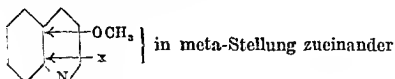
schlag fehl. Eine spasmolytische Wirkung bei diesen Verbindungen war nicht oder nur wenig vorhanden.

Weit über 100 Verbindungen dieser Art wurden dargestellt und in dieser Richtung untersucht. Bei allen diesen Substanzen fand sich die geschilderte Gesetzmäßigkeit. Eine Ausnahme von dieser Regel war bei der 6,7-Dimethoxychinolinverbindung vorhanden, die zwar auch eine spasmolytische Wirkung erkennen ließ, aber nicht in so ausgesprochener Weise.

Zusammenfassung.

Es konnte gezeigt werden, daß Dialkoxy-, Alkoxyalkyl- und Dialkylchinoline regelmäßig im Tierversuch eine spasmolytische Wirkung besitzen, wenn diese Reste in meta-Stellung substituiert werden. Anderen Substituenten in meta-Stellung fehlt diese Eigenschaft; im Gegenteil, es wurde sogar eine von diesen meta-substituierten Verbindungen dargestellt, welche die Darmbewegung fördert. Eine weitere Verstärkung der Spasmolyso durch Einführung von drei oder vier der oben genannten Substituenten konnte nicht erreicht werden.

IV. Von den zahlreichen Verbindungen in meta-Stellung mit anderen Substituenten, die in derselben Weise auf eine spasmodische Wirkung untersucht wurden, möge noch folgende summarische Zusammenstellung ein aufschlußreiches Bild geben. Ist z. B. der Substituent x in der Formel

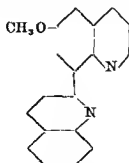


durch folgende Gruppen:

-Cl, -Br, -NO₂, -NH₂, -NH · COCH₃, -NH · CH₃,
 -NH · CH₂ · CH : CH₂, -NH · CH₂ · CH₂ · N(C₂H₅)₂ (und noch
 viele aus dieser Reihe), -NH · CO · OO₂H₅, -COOH, -COOC₂H₅,
 -CO · NH₂, -CO · NH · NH₂, -CO · NH · NH · CH₂ · CH₂ · N(C₂H₅)₂,
 -CO · CH₃, -CO · CH₂ · CH₂ · N(C₂H₅)₂,
 -CO · CH₂ · N(CH₃) · CH₂ · CH₂ · N(C₂H₅)₂, -CN oder



ersetzt, so war bei keiner dieser Verbindungen eine spasmodische Eigenschaft mehr vorhanden. Im Gegenteil, statt einer Hemmung der Darmtätigkeit erfolgte gerade durch diesen letzten Substituenten, nämlich in der Verbindung



eine Förderung der Darmbewegungen.

Der Versuch, durch Einführung von drei oder vier der oben genannten Substituenten (Alkoxy- und Alkylgruppen) eine weitere Steigerung der spasmodischen Eigenschaften zu bekommen,

schlag fehl. Eine spasmolytische Wirkung bei diesen Verbindungen war nicht oder nur wenig vorhanden.

Weit über 100 Verbindungen dieser Art wurden dargestellt und in dieser Richtung untersucht. Bei allen diesen Substanzen fand sich die geschilderte Gesetzmäßigkeit. Eine Ausnahme von dieser Regel war bei der 6,7-Dimethoxychinolinverbindung vorhanden, die zwar auch eine spasmolytische Wirkung erkennen ließ, aber nicht in so ausgesprochener Weise.

Zusammenfassung.

Es konnte gezeigt werden, daß Dialkoxy-, Alkoxyalkyl- und Dialkylchinoline regelmäßig im Tierversuch eine spasmolytische Wirkung besitzen, wenn diese Reste in meta-Stellung substituiert werden. Anderen Substituenten in meta-Stellung fehlt diese Eigenschaft; im Gegenteil, es wurde sogar eine von diesen meta-substituierten Verbindungen dargestellt, welche die Darmbewegung fördert. Eine weitere Verstärkung der Spasmolyse durch Einführung von drei oder vier der eben genannten Substituenten konnte nicht erreicht werden.

Beiträge zur Chemie der Allergene

PROF. DR. H. WEYLAND und DR. O. RIPKE
Aus dem Physiologischen Institut der I. O. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Im Verlauf der letzten Jahre haben sich zahlreiche Forscher, und zwar Chemiker sowohl wie auch Mediziner, mit der chemischen Natur solcher Stoffe, die im Tierversuch als Antigene zu wirken imstande sind, beschäftigt. Das wichtigste Ergebnis dieser Untersuchungen war die Entdeckung, daß diese Stoffe nicht notwendig Eiweißcharakter haben müssen, sondern auch anderen Stoffklassen, insbesondere den Kohlenhydraten, aber wahrscheinlich auch den Lipoiden, angehören können.

Ein Teilgebiet dieser Untersuchungen bildet nun die Aufklärung der allergisch wirkenden Bestandteile der Pollen der verschiedensten Pflanzen, insbesondere aber solcher, die als Heufiebererreger in Frage kommen. Es sind das in erster Linie die Gräser, in zweiter, besonders für Amerika in Betracht kommend, Kompositen, unter denen wiederum gewisse Arten von *Ambrosia* (ragweed) die größte Rolle spielen. Sie verursachen vor allem das dort sehr verbreitete herbstliche Heufieber. Es ist daher nicht verwunderlich, daß gerade in Amerika die mit dem Heufieber zusammenhängenden Fragen eifrig bearbeitet worden sind. Ein großer Teil der maßgebenden Veröffentlichungen der letzten Jahre findet sich in dem seit 1930 erscheinenden *Journal of Allergy*. Sie sind in der deutschen chemischen Literatur nicht einmal referiert, und es lohnt sich schon aus diesem Grunde, ihre Ergebnisse einmal zusammenzufassen. Unerläßlich ist es aber, sie zu kennen, wenn man selbst Untersuchungen auf diesem Gebiet anstellt und also die bisherigen Ergebnisse und Behauptungen und auch deren Widersprüche kennen muß.

Bestimmte Angaben über die chemische Natur der Allergene machte schon *Farmer Loeb* 1928 (*Biochem. Ztschr.* 203, S. 226), wo sich auch eine Zusammenstellung der älteren Literatur findet.

Es gelang ihm, Meerschweinchen spezifisch gegen Extrakte aus Gänsefedern und Pinuspollen zu sensibilisieren. Von dem Stickstoff der Lösung war etwa die Hälfte kolloiddispers, die andere molekulardispers. Fällte man diese Lösung mit Alkohol, so gelang mit der Fällung die Sensibilisierung ebenso wie mit dem Gesamtextrakt, mit dem Filtrat dagegen nicht. Die Fällung enthält dabei den kolloiddispersen Stickstoff und nur Spuren reduzierender Substanzen und gibt eine Sulfosalicylsäure-Reaktion, während die Ninhydrin-Reaktion negativ verläuft. Das Filtrat enthält nur molekulardispersen Stickstoff und mehr reduzierende Substanz. Die Sulfosalicylsäure-Reaktion ist negativ, die Ninhydrin-Reaktion positiv. Der gleiche Forscher fand 1930 (Klin. Wochenschr. 9, S. 890) weiter, daß auch Ammonsulfat die wirksame Substanz ausfällt. Diesem Befund entspricht allerdings derjenige von *Johnson und Rappaport* nicht ganz (Journ. Infect. Diseases 50, S. 290, 1932), die auch den mit Ammonsulfat nicht fällbaren Teil des Proteins für wirksam halten. Immerhin läßt alles dieses und die Tatsache, daß die wirksamen Fällungen die Proteinreaktionen gehen, es als wahrscheinlich erscheinen, daß es sich bei der wirksamen Substanz um einen Eiweißkörper handelt. Bei dem Versuch, die Extrakte mit Trypsin abzuheben, wurden allerdings nicht übereinstimmende Resultate erhalten. *M. Bouillenne* und *R. Bouillenne* (Bull. sci. acad. roy. Belg. (5) 17, S. 318, 1931) arbeiteten mit Ambrosiapollen. Sie konnten die Fällbarkeit des Wirkstoffes durch 70%ige Sättigung mit Ammonsulfat bestätigen, fanden aber keine Beziehung zwischen Wirksamkeit und Stickstoffgehalt. Das aktive Prinzip widerstand der Einwirkung proteolytischer Enzyme, wurde aber durch 50tägige Digestion mit „Pangestine“ zerstört. Andererseits konnte es 15 Stunden ohne Wirkungsverlust auf 75° erhitzt werden. Um ein Kohlenhydrat oder Glukosid konnte es sich ihrer Meinung nach nicht handeln. Die Eiweißnatur des Wirkstoffes wird auch von *Stull, Cooke* und *Chobot* verfochten (Journ. Biol. Chem. 92, S. 569, 1931). Sie arbeiten mit Phlempollen, erhalten einen wirksamen

Körper, den sie für ein Albumin halten und betonen, daß dies die einzige wirksame Substanz sei. Sie finden aber, daß der wirksame wässerige Extrakt hitzeempfindlich und koagulierbar sei. Allerdings stellten sie (Journ. of Allergy 3, S. 341, 1932) auch fest, daß sich 10 Jahre alte Pollen von Phleum anders verhielten als frische, sie waren nämlich im Gegensatz zu diesen arm an Protein und Wirkung. Die Globuline und die reduzierenden Substanzen der Pollen wurden ebenfalls geprüft, hatten aber keine spezifische Wirkung. *Stull, Cooke und Barnard* (Journ. of Allergy 3, S. 352, 1932) kommen auf Grund einer 14jährigen Erfahrung mit der Behandlung mit Phleumextrakt allein sogar zu der Vorstellung, daß es sich bei dem Allergen nur um eine einzige Substanz handle, die allen Extrakten gemeinsam sei.

Diesen Veröffentlichungen, die mehr oder weniger eindeutig für ein Eiweiß sprechen, stehen aber solche gegenüber, die auf andere Körpergruppen hinweisen. Schon 1931 will *Black* (Journ. of Allergy 2, S. 161) ein komplexes Kohlenhydrat im Ambrosiapollen nachgewiesen haben, das die spezifische Hautreaktion gab. Er stellt sich Alkoholpräzipitate aus wässerigen Pollenextrakten her, die er mit Essigsäure enteiweißt und durch mehrfache Umfällung reinigt, und erhält schließlich auf Pollen berechnet etwa 0,7 % eines Pulvers, das mit den Eiweißreagenzien nicht mehr fällt und *Fehling*sche Lösung erst nach der Hydrolyse reduziert. Er findet so 55 % reduzierender Stoffe in seiner Substanz, aber auch 6 % N. 1932 (Journ. of Allergy 3, S. 1) äußert er sich dahin, daß die Literaturübersicht über die antigenen Eigenschaften der Pollen mehr die Kohlenhydratfraktion als die der Proteine als wirksame Substanz erscheinen lasse. Er bezieht sich dabei z. B. auf eine Arbeit von *M. B. Moore, Cromwell und E. E. Moore* (Journ. of Allergy 2, S. 6, 1931), nach der die nicht dialysable, mit wasserfreiem Alkohol gewonnene Fraktion von Pollen die Hautreaktion gab. Es soll sich hierbei um ein Glukosid handeln, das auch mit wässerigen Lösungsmitteln extrahiert werden kann. Die Autoren glauben aber, daß der Wirkstoff mit Alkohol keine

echte Lösung ergebe, sondern nur eine feine Suspension, die durch Dialyse gegen Petroläther getrennt werden könne, wobei sich das aktive Material niederschlage. Zugunsten der Auffassung *Blacks* soll weiter sprechen, daß nach *Milford* (*Journ. of Allergy* 1, S. 331, 1930) ein Ölextrakt aus trockenen Ambrosiapollen bei zwei Drittel derjenigen Patienten den Hauttest ergab, die auch gegen wässrige Lösungen aus denselben Pollen empfindlich waren. Solche Versuche hatte auch *Cora* schon gemacht und ein N- und P-freies Öl erhalten, mit dem er einen positiven Skarifikations-test bekam. *Stull, Cooke und Chobot* (*Journ. of Allergy* 3, S. 341, 1932) weisen aber darauf hin, daß das kein typischer Hauttest sei, sondern eine unspezifische Dermatitis, die man bei empfindlichen Personen erhalten könne, auch wenn sie gegen die Pflanze, die das Öl geliefert habe, nicht spezifisch überempfindlich seien. Et- was später gelang es dann *M. B. Moore* und *E. E. Moore* (*Journ. Amer. Chem. Soc.* 53, S. 2744, 1931), aus Pollen von *Dactylis glomerata* und von *Phleum pratense* 0,5 % eines Dactylin genannten Stoffes zu isolieren, dem sie die Formel $C_{23}H_{28}O_{15}$ (Fp. 183—185°) zuweisen. Seine wässrige Lösung gab stark die Reaktion von *Molisch* und reduzierte *Fehlingsche* Lösung nicht, nach der Hydrolyse mit 5%iger Schwefelsäure erhielt man aber einen gelben Körper vom Fp. 298—300° und 2 Mol. einer Hexose. *Stull, Cooke und Chobot* stellen aber ausdrücklich fest, daß diese Körper allergisch wirkungslos seien.

Auch *Johnson und Rappaport* (*Journ. Infect. Diseases* 50, S. 290, 1932) hestätigen, daß eine Lipoidfraktion aus Ambrosiapollen, die 0,2—0,3 % N enthielt, bei 19 von 21 Heufieberkranken eine deutlich positive Hautreaktion gegeben habe. *Unger, Cromwell und Moore* (*Journ. of Allergy* 3, S. 252, 1932) fanden schließlich, daß die die Hautreaktion bewirkenden Substanzen bei verschiedenem pH durch Celloidin, Cellophan und Pergament diffundierten, und zwar am leichtesten bei schwach saurer Reaktion.

Wenn man sich fragt, wie die verschiedene Auffassung der Autoren über die chemische Natur des Wirkstoffes zustande

Körper, den sie für ein Albumin halten und betonen, daß dies die einzige wirksame Substanz sei. Sie finden aber, daß der wirksame wässerige Extrakt hitzeempfindlich und koagulierbar sei. Allerdings stellten sie (*Journ. of Allergy* 3, S. 341, 1932) auch fest, daß sich 10 Jahre alte Pollen von *Phleum* anders verhielten als frische, sie waren nämlich im Gegensatz zu diesen arm an Protein und Wirkung. Die Globuline und die reduzierenden Substanzen der Pollen wurden ebenfalls geprüft, hatten aber keine spezifische Wirkung. *Stull, Cooke und Barnard* (*Journ. of Allergy* 3, S. 352, 1932) kommen auf Grund einer 14jährigen Erfahrung mit der Behandlung mit Phleumextrakt allein sogar zu der Vorstellung, daß es sich bei dem Allergen nur um eine einzige Substanz handle, die allen Extrakten gemeinsam sei.

Diesen Veröffentlichungen, die mehr oder weniger eindeutig für ein Eiweiß sprechen, stehen aber solche gegenüber, die auf andere Körpergruppen hinweisen. Schon 1931 will *Black* (*Journ. of Allergy* 2, S. 161) ein komplexes Kohlenhydrat im Ambrosiapollen nachgewiesen haben, das die spezifische Hautreaktion gah. Er stellt sich Alkoholpräzipitater aus wässrigen Pollenextrakten her, die er mit Essigsäure enteiweißt und durch mehrfache Umfällung reinigt, und erhält schließlich auf Pollen berechnet etwa 0,7 % eines Pulvers, das mit den Eiweißreagenzien nicht mehr fällt und *Fehlingsche* Lösung erst nach der Hydrolyse reduziert. Er findet so 55 % reduzierender Stoffe in seiner Substanz, aber auch 6 % N. 1932 (*Journ. of Allergy* 3, S. 1) äußert er sich dahin, daß die Literaturübersicht über die antigenen Eigenschaften der Pollen mehr die Kohlenhydratfraktion als die der Proteine als wirksame Substanz erscheinen lasse. Er bezieht sich dabei z. B. auf eine Arbeit von *M. B. Moore, Cromwell und E. E. Moore* (*Journ. of Allergy* 2, S. 6, 1931), nach der die nicht dialysable, mit wasserfreiem Alkohol gewonnene Fraktion von Pollen die Hautreaktion gah. Es soll sich hierbei um ein Glukosid handeln, das auch mit wässrigen Lösungsmitteln extrahiert werden kann. Die Autoren glauben aber, daß der Wirkstoff mit Alkohol keine

Zur Beurteilung der beim Heufieber wirksamen Stoffe dürfte streng genommen nur die spezifische Hautreaktion beim Menschen herangezogen werden.

Unter diesen Umständen schien eine Nachprüfung der Befunde, soweit sie sich auf Pollen heufiebererregender Pflanzen beziehen, notwendig zu sein. Wir beschränkten uns auf die Untersuchung von Phleumpollen, weil in Mitteleuropa Gräser die Hauptrolle als Heufiebererreger spielen und dieser Art eine besonders große Bedeutung zukommt, weiter aber auch deshalb, weil die Untersuchung nur mit einem Gras durchgeführt werden kann, das wie *Phleum pratense* große Mengen von Pollen liefert.

Wir stellten uns die folgenden Fragen:

1. Welche Stoffe des Pollens sind für dessen allergische Wirksamkeit verantwortlich zu machen?
2. Steht ihr Vorhandensein zum Alter des Pollens in Beziehung?

Aus ihrer Beantwortung können sich für die Herstellung eines therapeutisch zu verwendenden Präparates Anhaltspunkte ergeben.

Wir geben dazu im folgenden eine geeignete Auswahl unserer Versuche wieder.

V Versuchsergebnisse.

I. Verwendet wurden Phleumpollen vorjähriger Ernte (1932), die an der Luft bei 40° getrocknet und zur Verhinderung von Tierfraß mit einigen Tropfen Chloroform auf ein Volumen von 100 ccm versetzt in verschlossenem Gefäß aufbewahrt worden waren.

55 g dieser Pollen wurden nach Extraktion mit Petroläther mit Quarzsand zerrieben und oftmals mit destilliertem Wasser ausgeschüttelt. Es wurden schließlich 1765 ccm Lösung erhalten, die mit 1325 g Ammonsulfat gesättigt wurden. Der entstandene Niederschlag und das Filtrat davon wurden in Cellophanschläuchen 48 Stunden gegen fließendes Wasser dialysiert. Da die im Schlauch verbliebenen Lösungen nach dieser Zeit noch immer Ammonsulfat enthielten, wurden sie im Vakuum bei niedriger

kommen konnte, so kann man dafür aus den verschiedenen Arbeiten zwei Gründe herauslesen. Der eine ist der, daß das Alter der Pollen den Wirkstoff stark beeinflussen kann. Es ist sehr wohl denkbar, daß er im frischen Pollen anders gebunden sein kann als im älteren, und daß sich damit seine Lösungsvorhältnisse grundlegend ändern. Zweitens aber fällt beim Studium der zahlreichen Veröffentlichungen auf, daß die Feststellung der Wirksamkeit der verschiedenen Präparate und Fraktionen nicht nach der gleichen Methodik geschehen ist. Und diese Tatsache hat nachweisbar viel zu der Verwirrung beigetragen. Es steht nämlich heute fest, daß die Hautreaktionen beim Menschen und beim Tier durchaus nicht vergleichbar sind und daß erst recht nicht Substanzen, die im Tierversuch als Antigene wirken, überhaupt eine Hautreaktion beim Heufieberkranken bewirken müssen und umgekehrt. In diesem Sinne verliefen z. B. Versuche von *Adelsberger* (*Ztschr. f. Hyg. u. Inf.-Kr.* 111, S. 577, 1930), bei denen mit Präparaten aus Katzenhaaren und Katzen- und Ziegenhautschuppen im Tierversuch bei intrakutaner Vorbehandlung und intravenöser Reinjektion keine anaphylaktische Erscheinung hervorzurufen war, obgleich sie beim empfindlichen Menschen die Hautreaktion gaben. Auch konnte bei dieser Methode mit Phlempollen nur eins von zwölf Meerschweinchen anaphylaktisch gemacht werden. Allerdings kommt es bei solchen Versuchen sehr auf die Versuchsanordnung an. Am empfindlichsten scheint der *Dalesche* Versuch zu sein (*Journ. of Pharm. a. Exp. Ther.*, Bd. 4, S. 75, 167, 1913), bei dem man die Reaktion des Uterus vorbehandelter Meerschweinchen auf Zusatz des Anaphylaktogens beobachtet. So gelang *Walzer* und *Grove* (*Journ. of Immunology* 10, S. 483, 1925), *Longcope*, *O'Brien* und *Perlzweig* (ebenda 11, S. 253, 1926) und *Farmer Loeb* (*Biochem. Ztschr.* 203, S. 226, 1928, und *Klin. Wschr.* 9, S. 890, 1930) der Nachweis der Sensibilisierung von Meerschweinchen. Der Hauttest wurde außer an Heufieberkranken auch so ausgeführt, daß man zunächst eine lokale passive Sensibilisierung und nachfolgend eine Desensibilisierung vornahm.

bei 40° Außentemperatur zur Trockne gebracht. Ausbeute: 8,0 g einer gelbbraunen schmierigen Masse (Fraktion e).

Die Zuckerbestimmung der drei Fraktionen nach der Inversion, auf Glucose berechnet, ergab für Fraktion a einen Reduktionswert von 0, für Fraktion b von 0, für Fraktion e von 30,6%. Der Zucker der Fraktion e wurde als Glukosazon identifiziert. Ein großer Teil konnte in dieser Form bereits ohne Inversion erhalten werden.

Bei der Prüfung am heufieberkranken, gegen Phleum empfindlichen Menschen erwiesen sich die Fraktionen a und b als wirksam, e als völlig unwirksam.

Die konzentrierte Lösung der Fraktion e erstarrt bald gallertig infolge der Anwesenheit von Pektinstoffen.

Aus den beiden Versuchen ergibt sich, daß in 100 g Pollen an reduzierender Substanz als Glucose berechnet enthalten waren:

9,1 mg dialysabler Zucker,

94,6 mg nicht dialysabler, aber ohne Inversion mit der Reduktionsmethode erfaßbarer Zucker,

4,9 g Gesamtzucker nach der Inversion.

Der Hauptteil der reduzierenden Substanzen dürfte demnach aus den Pektinstoffen stammen. Eine allergische Wirkung kommt den reduzierenden Substanzen nicht zu, diese ist vielmehr auf die Eiweißfraktion beschränkt, deren Hauptteil aus Albuminen besteht.

III. Wir haben weiterhin die entscheidende Arbeit von *Black* (*Journ. of Allergy* 2, 161), der als wirksame Substanz ein Kohlenhydrat nachgewiesen haben will, nachgearbeitet, und zwar mit Pollen des Jahres 1932, die an der Luft getrocknet und mit etwas Chloroform versetzt worden waren, und mit solchen, die eben geerntet und ohne Chloroformzusatz im Vakuum getrocknet worden waren, konnten aber mit keinem der Ausgangsprodukte die kohlenhydrathaltige und eiweißfreie Fällung erhalten, die von *Black* angegeben wird. Es ergab sich jedoch, daß die Pollen insofern verschieden waren, als die Lösung aus den jüngeren mehr

Temperatur stark konzentriert und nochmals 48 Stunden bis zur Sulfatfreiheit dialysiert. Darauf wurden sie auf 100 ccm gebracht.

Die Zuckerbestimmung ohne Inversion ergab bei der Lösung des ausgesalzenen Produktes einen Reduktionswert von 52 mg Zucker in 100 ccm, bei dem Filtrat der Aussalzung dagegen nur 5 mg in 100 ccm, als Glucose berechnet.

Hieraus ergibt sich, daß fast die gesamte ohne Inversion reduzierende Substanz mit den Proteinstoffen zusammen von Ammonsulfat ausgesalzen wird, daß sie also im wesentlichen in gebundener Form in der wässrigen Lösung der Pollen vorliegt, aber bei der Bestimmung mit der Reduktionsmethode erfaßt wurde.

Spezifisch wirksam war nach den Versuchen von Professor Hansen-Lübeck beim heufieberkranken, gegen Pbleum empfindlichen Patienten nur die Aussalzung, also die Eiweiß und gebundene reduzierende Stoffe enthaltende Substanz.

II. Zur weiteren Trennung der Pollenbestandteile wurden 50 g der wie bei Versuch I präparierten Pollen mit Petroläthor erschöpfend extrahiert, wobei 1,69 g einer weichen, wachsartigen, gelbbraun gefärbten Masse erhalten wurden. Die entfetteten Pollen wurden mit Quarzsand zerrieben und mehrfach mit destilliertem Wasser, im ganzen mit 1700 ccm, bei 20° auf der Sebüttelmaschine ausgeschüttelt. Das Filtrat wurde darauf im Vakuum bei 40° Wasserbadtemperatur auf 170 ccm eingeengt und bis zum Auftreten einer bleibenden Fällung nach und nach mit insgesamt 119 ccm Trockensprit versetzt. Die Mischung blieb 48 Stunden im Kühlraum, war danach aber wegen der ausgeschiedenen Pektinstoffe nicht filtrierbar. Es wurden daher weitere Mengen Trockensprit zugesetzt, bis eine Filtration möglich war, nämlich noch 187 ccm. Die Fällung wurde nun abgetrennt, mit Alkohol verrieben und im Vakuumexsikkator getrocknet. Ausbeute: 5,2 g eines grünlichgrauen Pulvers (Fraktion a). Das Filtrat dieser ersten Fällung wurde weiter mit dem zehnfachen Volumen Trockensprit völlig ausgefällt. Ausbeute: 1,1 g eines hellbraunen Pulvers (Fraktion b). Das Filtrat dieser zweiten Fällung wurde im Vakuum

Zur Aviditätsbestimmung neuerer Arsenobenzolpräparate (Myo-Salvarsan, Solu-Salvarsan)

DR. R. SCHNITZER

Aus dem Chemotherapeutischen Laboratorium der I. O. Farbenindustrie AG.,
Werk Hoechst

Zur Wertbestimmung chemotherapeutischer Agenzien sind von Ehrlich zwei Wege gezeigt, die, bei der Auffindung des Salvarsan bewährt, auch in der Folgezeit bis auf den heutigen Tag von ihrer methodischen und praktischen Bedeutung nichts eingebüßt haben. Den ersten Weg stellt die quantitative Ermittlung des Wirkungsgrades an einem geeigneten tierexperimentellen Modell dar; der so erhaltene Wert — die *dosis curativa minima* — wird in Beziehung gesetzt zur gut vertragenen Höchstdosis — *dosis tolerata* — und ergibt den als chemotherapeutischen Index (%) allgemein bekannten Quotienten. Die hohe Bedeutung dieses auf eine einfache Formel gebrachten Ausdrucks der therapeutischen Breite eines Heilmittels soll nicht herabgemindert werden, wenn man ausspricht, daß der chemotherapeutische Index allein nicht den maßgeblichen Faktor für die endgültige Bewertung eines Chemotherapeuticums bilden kann. Das ist nur dann der Fall, wenn die laboratoriumsmäßige Prüfung, ergänzt durch klinische Versuche unter den Bedingungen der natürlichen Infektion und den meist schwierigen Voraussetzungen der ärztlichen oder tierärztlichen Praxis die Wahrscheinlichkeit erbracht hat, daß die experimentelle Untersuchung wirklich gewisse Rückschlüsse auf die klinische Wirksamkeit zuläßt. Die langjährigen Erfahrungen, die auf dem Gebiet des Salvarsan und seiner Ahkömmlinge durch Ehrlich und im Rahmen der ständigen biologischen staatlichen Prüfung von Kollé und seinen Mitarbeitern gesammelt wurden, erlauben vielleicht in höherem Maße als bei anderen Heilmitteln die Prüfungsmethoden des Laboratoriums als brauchbaren Test für die Wirksamkeit am kranken Menschen anzusehen. Neben der Prüfung am experimentell mit Syphilis

grün, die aus den älteren mehr gelb war, und daß aus den jüngeren mehr Extraktivstoffe in die wässerige Lösung gingen. Die vergleichende klinische Untersuchung ergab aber keine sicheren Unterschiede im intrakutanen Hauttest bei Verwendung der verschiedenen Lösungen bei ein und derselben Versuchsperson.

IV. Schließlich wurde ein Versuch mit einer Phleumlösung ausgeführt. Durch Zusatz der zehnfachen Menge Alkohol wurde ein Niederschlag erhalten, der nach dem Nachwaseben mit Alkohol und Trocknen an der Luft wiederum in Wasser gelöst wurde. Ursprüngliche Lösung, Alkoholfällung und Filtrat wurden im gleichen Verhältnis zum verwendeten Pollen verdünnt und mit der Intrakutanmethode an einer Anzahl gegen Phleum empfindlicher Heufieberpatienten möglichst genau eingestellt. Es ergab sich, daß das Filtrat der Alkoholfällung völlig wirkungslos war, während die Alkoholfällung gegenüber dem Ausgangspräparat etwa 30 % der Wirkung verloren hatte. Dieser Verlust kann nur durch die teilweise Denaturierung des wirk-samen Albumins erklärt werden.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen stimmen mit den-jenigen der Autoren, die sich für die Eiweißnatur der Pollen-allergene eingesetzt haben, insbesondere mit den ausführlichen Darlegungen von *Stull*, *Cooke* und *Chobot*, im wesentlichen überein. Daß verschiedene Untersucher zu quantitativ übereinstim-menden Zahlen kommen, ist nicht zu erwarten, weil bereits die verschiedenen Pollenjahrgänge, auch wenn sie von den gleichen Pflanzen gewonnen werden, in ihren Bestandteilen stark variieren, ferner, weil sich die Pollen beim Lagern dauernd verändern und weil schließlich die Reaktionsfähigkeit der gleichen zur An-swertung benutzten Heufieberpatienten von Jahr zu Jahr großen Schwankungen unterworfen ist. So erklärt es sich auch, daß die desensibilisierende Behandlung die schärfste Beobachtung durch den behandelnden Arzt erfordert und daß ihre Erfolge mit zu-nehmender Erfahrung des Arztes immer besser werden, wie wir es in der Tat in der Praxis immer wieder feststellen können.

spezifisch arzneifester Trypanosomen durch *Ehrlich* und seine Mitarbeiter, *Browning* und *Roehl*, durch *Morgenroth*, *Kolle*, *W. Yorke* und viele andere gerade für die Kenntnis des Wirkungsmechanismus der trypanoziden Arsenikalien eine große Bedeutung gewonnen hat. Den ganzen mit der Arzneifestigung zusammenhängenden Fragenkomplex zu erörtern, würde den Rahmen dieser Mitteilung weit überschreiten. Es sei deshalb nur das Wesen dieses Vorgangs, wie es sich bei dem heutigen Stande der Erfahrungen darstellt, definiert:

Unter arzneifesten Parasitenstämmen (in Frage kommen für die vorliegenden Untersuchungen nur Trypanosomenstämme) verstehen wir Erreger von an sich normaler Empfindlichkeit, die durch fortgesetzte Behandlung mit langsam gesteigerten Mengen eines Arzneimittels gegen diese so weit unempfindlich gemacht worden sind, daß selbst die dosis tolerata nicht mehr wirkt. Es ist allerdings nicht zulässig, von vornherein einen mit Salvarsan gefestigten Stamm, der z. B. von zahlreichen Arsenobenzolen, Arsenoxyden oder Arsinsäuren nicht mehr beeinflusst wird, als generell arsenfest zu bezeichnen. Ebenso verhält es sich natürlich bei anderen Chemotherapeutica. Korrekterweise hat man nur das Recht, von Salvarsan- oder Trypaflavin- oder parafluorinfesten Stämmen zu sprechen, die dann noch weiter charakterisiert werden können durch diejenigen Mittel, auf welche die Festigkeit übergreift.

Der Umstand, daß Salvarsan-feste Trypanosomen von anderen Arsenikalien, ja von anderen Arsenobenzolpräparaten beeinflusst werden können, ist von besonderer Wichtigkeit. Denn die Verbindungen, welche trotz ihrer bestehenden hohen Festigkeit der Parasiten noch wirksam werden, sind diejenigen, denen *Ehrlich* eine besonders hohe Avidität zuerkannte. Bisher war nur ein Beispiel einer solchen hochaviden Verbindung bekannt, das Arsonnphenylglycin, das nach *Ehrlich* auf atoxyl- oder arsacetinfeste Trypanosomen, nach *Morgenroth* und *Halberstädter* auch auf Salvarsan-feste Trypanosomen noch wirkte. Wir haben diese Beobachtungen an mehreren maximal Salvarsan-festen Trypanosomenstämmen, die auch von Arsinsäuren, Arsenoxyden, ja sogar von Brech Weinstein nicht mehr beeinflusst wurden, bestätigt, bevor wir daran gingen, bei den neuen Arsenobenzolpräparaten, dem Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan eine Aviditätsbestimmung vorzunehmen.

Zu den hier vorgelegten Versuchen wurden zwei spezifisch gegen Salvarsan gefestigte Trypanosomenstämme (*Tryp. brucei*, Nagana) benutzt. Der eine von ihnen, I/28, war im Jahre 1928 gefestigt worden und hatte in 12—17 Passagen maximale Festigkeit gegen Salvarsan (5 mg pro 20 g Maus) erreicht. Bei über dreijähriger Weiterführung in Mausepassagen — ohne weitere Salvarsan-Gaben — hat sich sein Verhalten bisher nicht geändert.

Der zweite Stamm, II/31, von an sich etwas höherer Arsenempfindlichkeit als der erste Stamm, wurde vor zwei Jahren gleichfalls gegen Salvarsan gefestigt und erreichte nach 40 Passagen maximale Festigkeit gegen 5 mg Salvarsan.

infizierten Kaninchen, an der experimentell mit Rekurrensspirochäten infizierten Maus hat sich bei der biologischen Auswertung der Salvarsan-Präparate die Prüfung an der mit Nagana infizierten Maus besonders bewährt, in solchem Maße, daß mit relativ geringen Modifikationen (verschiedene Trypanosomenrassen, Verwendung von Ratten statt Mäusen u. ä.) der Test an mit Trypanosomen infizierten Nager in der ganzen Welt anerkannt ist. Dieser Test ist bekanntlich nichts anderes als die quantitative Auswertung der *dosis curativa minima* in bestimmt normierter Weise. Und wenn auch der Parallelismus zwischen trypanozider und antisypilitischer Wirkung sicher kein vollkommener ist (*McCoy*), so erscheint doch der Trypanosomentest für praktische Zwecke nicht nur ausreichend, sondern er ist sicher auch der empfindlichste.

So ist es kein Wunder, daß bei der großen und schnellen Entwicklung, die die Chemotherapie auf diesem Gebiete genommen hat, der zweite Wog, den *Ehrlich* zur Wertbestimmung der Arsenobenzole gewiesen hat, etwas in den Hintergrund getreten ist: Es handelt sich um die Ermittlung der Avidität. Der Begriff der Avidität hängt eng mit der *Ehrlichschen* Anschauung der direkten chemischen Reaktion zwischen Erreger und Chemotherapeuticum zusammen und bezeichnet das Maß der gegenseitigen Reaktionsfähigkeit. Voraussetzung dafür ist die Reaktionsbereitschaft beider Agenzien und die Möglichkeit, diese Reaktionsbereitschaft zu ändern. Die Frage der Avidität, die an sich als ein rein chemisches Problem imponiert, da die chemische Variation die besten Bedingungen zu experimentellen Aviditätsänderungen bietet, wurde ein besonders interessantes und aufschlußreiches biologisches Problem in dem Augenblick, als es gelang, die Reaktionsbereitschaft der Erreger zu ändern. Dies war der Fall bei der Entdeckung der spezifischen Arzneifestigkeit.

Die Möglichkeit der Giftgewohnung von protozoischen und bakteriellen Krankheitserregern ist bekannt, ebenso wie die Tatsache, daß die Gewinnung

spezifisch arzneifester Trypanosomen durch *Ehrlich* und seine Mitarbeiter, *Browning* und *Roehl*, durch *Morgenroth*, *Kolle*, *W. Yorke* und viele andere gerade für die Kenntnis des Wirkungsmechanismus der trypanoziden Arsenikalien eine große Bedeutung gewonnen hat. Den ganzen mit der Arzneifestigung zusammenhängenden Fragenkomplex zu erörtern, würde den Rahmen dieser Mitteilung weit überschreiten. Es sei deshalb nur das Wesen dieses Vorgangs, wie es sich bei dem heutigen Stande der Erfahrungen darstellt, definiert:

Unter arzneifesten Parasitenstämmen (in Frage kommen für die vorliegenden Untersuchungen nur Trypanosomenstämme) verstehen wir Erreger von an sich normaler Empfindlichkeit, die durch fortgesetzte Behandlung mit langsam gesteigerten Mengen eines Arzneimittels gegen diese so weit unempfindlich gemacht worden sind, daß selbst die dosis tolerata nicht mehr wirkt. Es ist allerdings nicht zulässig, von vornherein einen mit Salvarsan gefestigten Stamm, der z. B. von zahlreichen Arsenebenzolen, Arsenoxyden oder Arsinsäuren nicht mehr beeinflußt wird, als generell arsenfest zu bezeichnen. Ebenso verhält es sich natürlich bei anderen Chemotherapeutica. Korrekterweise hat man nur das Recht, von Salvarsan- oder Trypaflavin- oder parafochsinfesten Stämmen zu sprechen, die dann noch weiter charakterisiert werden können durch diejenigen Mittel, auf welche die Festigkeit übergreift.

Der Umstand, daß Salvarsan-feste Trypanosomen von anderen Arsenikalien, ja von anderen Arsenobenzolpräparaten beeinflußt werden können, ist von besonderer Wichtigkeit. Denn die Verbindungen, welche trotz einer bestehenden hohen Festigkeit der Parasiten noch wirksam werden, sind diejenigen, denen *Ehrlich* eine besonders hohe Avidität zuerkannto. Bisher war nur ein Beispiel einer solchen hochaviden Verbindung bekannt, das Arsenophenylglycin, das nach *Ehrlich* auf atoxyl- oder arsacetinfeste Trypanosomen, nach *Morgenroth* und *Halberstädter* auch auf Salvarsan-feste Trypanosomen noch wirkte. Wir haben diese Beobachtungen an mehreren maximal Salvarsan-festen Trypanosomenstämmen, die auch von Arsinsäuren, Arsenoxyden, ja sogar von Brechweinstein nicht mehr beeinflußt wurden, bestätigt, bevor wir daran gingen, bei den neuen Arsenobenzolpräparaten, dem Myo-Salvarsan und Seln-Salvarsan eine Aviditätsbestimmung vorzunehmen.

Zu den hier vorgelegten Versuchen wurden zwei spezifisch gegen Salvarsan gefestigte Trypanosomenstämme (*Tryp. brucei*, Nagana) benutzt. Der eine von ihnen, I/28, war im Jahre 1928 gefestigt worden und hatte in 12—17 Passagen maximale Festigkeit gegen Salvarsan (5 mg pro 20 g Maus) erreicht. Bei über dreijähriger Weiterführung in Mausepassagen — ohne weitere Salvarsan-Gaben — hat sich sein Verhalten bisher nicht geändert.

Der zweite Stamm, II/31, von an sich etwas höherer Arsenempfindlichkeit als der erste Stamm, wurde vor zwei Jahren gleichfalls gegen Salvarsan gefestigt und erreichte nach 40 Passagen maximale Festigkeit gegen 5 mg Salvarsan.

infizierten Kaninehen, an der experimentell mit Rekurrensspirochäten infizierten Maus hat sich bei der biologischen Auswertung der Salvarsan-Präparate die Prüfung an der mit Nagana infizierten Maus besonders bewährt, in solchem Maße, daß mit relativ geringen Modifikationen (verschiedene Trypanosomenrassen, Verwendung von Ratten statt Mäusen u. ä.) der Test am mit Trypanosomen infizierten Nager in der ganzen Welt anerkannt ist. Dieser Test ist bekanntlich nichts anderes als die quantitative Auswertung der *dosis curativa minima* in bestimmt normierter Weise. Und wenn auch der Parallelismus zwischen trypanozider und antisypilitischer Wirkung sicher kein vollkommener ist (*McCoy*), so erscheint doch der Trypanosomentest für praktische Zwecke nicht nur ausreichend, sondern er ist sicher auch der empfindlichste.

So ist es kein Wunder, daß bei der großen und schnellen Entwicklung, die die Chemotherapie auf diesem Gebiete genommen hat, der zweite Weg, den *Ehrlich* zur Wertbestimmung der Arsenobenzole gewiesen hat, etwas in den Hintergrund getreten ist: Es handelt sich um die Ermittlung der Avidität. Der Begriff der Avidität hängt eng mit der *Ehrlichschen* Anschauung der direkten chemischen Reaktion zwischen Erreger und Chemotherapeutikum zusammen und bezeichnet das Maß der gegenseitigen Reaktionsfähigkeit. Voraussetzung dafür ist die Reaktionsbereitschaft beider Agenzien und die Möglichkeit, diese Reaktionsbereitschaft zu ändern. Die Frage der Avidität, die an sich als ein rein chemisches Problem imponiert, da die chemische Variation die besten Bedingungen zu experimentellen Aviditätsänderungen bietet, wurde ein besonders interessantes und aufschlußreiches biologisches Problem in dem Augenblick, als es gelang, die Reaktionsbereitschaft der Erreger zu ändern. Dies war der Fall bei der Entdeckung der spezifischen Arzneifestigkeit.

Die Möglichkeit der Giftgewöhnung von protozoischen und bakteriellen Krankheitserregern ist bekannt, ebenso wie die Tatsache, daß die Gewinnung

Die chemotherapeutischen Heilmittel, die zu der näheren Untersuchung der beiden Stämme herangezogen wurden, sind zum größten Teil gut bekannt. Geprüft wurden von

Arsenikalien: Salvarsan, Neosalvarsan, Myo-Salvarsan, Solu-Salvarsan, Arsenophenylglycin; als Repräsentant der Arsinsäuren das Arsacetin und von den Arsinoxyden das 3-Amino-4-oxyphenylarsinoxyd.

Antimonialien: Brechweinstein, Antimosan, und als Stibinsäure das Stibosan.

Ferner wurde noch als orthochinoider Farbstoff das Trypaflavin und als Vertreter ganz anderer Gruppen trypanozider Heilmittel der Triphenylmethanfarbstoff Parafuchsin und das Germanin untersucht.

In ihrer Beeinflussbarkeit gegenüber diesen Chemotherapeutica verhielten sich beide Stämme gleich und bestätigten damit eine Beobachtung, die wir im Laufe der Jahre an sechs verschiedenen von uns gewonnenen Salvarsan-festen Stämmen gemacht hatten, daß diese nämlich untereinander kaum verschieden sind.

Die Ergebnisse der Spezifitätsprüfung gibt die folgende Tabelle 1 wieder.

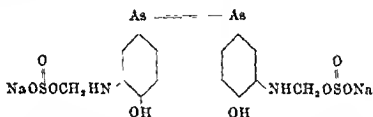
Tabelle 1.

Verhalten der Salvarsan-festen Trypanosomenstämme I/28 und II/31.

Gruppe	Präparat	Dosis pro 20 g	Darreichung	Wirkung
Arsenikalien	Salvarsan	5 mg	subkutan	unwirks.
	Neosalvarsan	4—5 mg	intravenös	unwirks.
	Arsenophenylglycin	3,3—2 mg	subkutan	wirksam
	Aminooxyphenylarsinoxyd	0,2 mg	subkutan	unwirks
	Arsacetin	10 mg	subkutan	unwirks
Antimonialien	Brechweinstein	0,5 mg	subkutan	unwirks.
	Antimosan	3,3 mg	subkutan	unwirks.
	Stibosan	10 mg	subkutan	wirksam
Verschiedene Präparate	Trypaflavin	0,4 mg	subkutan	unwirks.
	Parafuchsin	1 mg	subkutan	wirksam
	Germanin	0,1 mg	subkutan	wirksam

Die Aufstellung zeigt das charakteristische Bild der chemotherapeutischen Beeinflussbarkeit Salvarsan-fester Trypanosomen. Von Arsenikalien ist nur das Arsenophenylglycin wirksam. Von Antimon-Verbindungen, sofern zugleich mit der Salvarsan-Festigkeit auch Brechweinstein-Festigkeit erreicht wird (was nicht regelmäßig vorkommt, aber hier bei beiden Stämmen der Fall war), wirkt entsprechend früheren Erfahrungen (*Schnitzer*, 1925) nur noch Stibosan. Das Verhalten des Trypaflavin zeigt das regelmäßig zu beobachtende Übergreifen der Festigkeit auf orthochinoide Farbstoffe, während Parafuchsin und natürlich das Germanin ihre normale volle Wirksamkeit besitzen. Besonders interessante Beziehungen deckte die Untersuchung des Myo-Salvarsan und des Solu-Salvarsan auf, und deshalb sei auf diese Verhältnisse hier etwas näher eingegangen.

Das Myo-Salvarsan (Dioxydiaminoarsenobenzoldiformaldehydschwefligsaures Natrium)



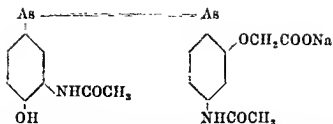
ist in seinen biologischen und therapeutischen Eigenschaften von *Kolle* beschrieben und wird infolge seiner intramuskulären Verträglichkeit für bestimmte Indikationen an Stelle des Neosalvarsan praktisch angewandt.

Die Verbindung, die in Lösung etwas stabiler ist als das leicht oxydable Neosalvarsan, wird von Mäusen in der Dosis von 13 mg pro 20 g bei subkutaner Injektion vertragen, bei intravenöser Darreichung ist die dosis tolerata 10 mg.

Bezüglich der allgemeinen und örtlichen Verträglichkeit des Myo-Salvarsan für Kaninchen und seine Wirkung bei experimenteller Kaninchensyphilis sei auf die obengenannte Arbeit von *Kolle* verwiesen.

Die trypanozide Wirkung des Myo-Salvarsan auf normale, gut arsenempfindliche Stämme ist recht erheblich. Die dosis curativa liegt bei 1,0—0,5 mg pro 20 g Maus.

Das Solu-Salvarsan ist eine asymmetrische Arsenobenzolverbindung von der Formel:



(3-Acetyl-amino-4-oxybenzolzarseno-4' acetyl-amino-2' phenoxyessigsaures Natrium.) Sie verbindet mit der guten intramuskulären Vortröglichkeit eine hohe Stabilität in gelöstem Zustande, so daß sie in dieser Form abgegeben werden kann.

Die Verträglichkeit für die üblichen Versuchstiere ist gnt. Mäuse vertragen bei subkutaner Injektion 25 mg pro 20 g, 20—10 mg bei intraveoöser Injektion; Ratton 250—350 mg pro kg Körpergewicht subkutan. Für Kaninchen ist die dosis tolerata 200 mg pro kg bei subkutaner oder intramuskulärer Injektion.

Die trypanozide Wirkung ähnelt derjenigen des Myo-Salvarsan. Infektion mit normalen Nagana-Trypanosomen (Stamm Prowazok) worden durch 0,0 mg pro 20 g Maus geheilt.

Berechnet man nach diesen Angaben den chemotherapeutischen Index für Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan, so erhält man für das erstere 1:26—30, für Solu-Salvarsan 1:27, d. h. Werte, die etwas weniger günstig erscheinen als der höhere Index, wie ihn Neosalvarsan darbietet.

Wenn nichtsdestoweniger die Wirkung auf experimentelle Spirochäteninfektionen¹⁾ (besonders auf Kaninchensyphilis) ebenso wie die klinische Wirkung der beiden neuen Salvarsan-Präparate denen älterer Präparate nicht nachstehen, so liegt das daran, daß die alleinige Betrachtung des Index kein erschöpfendes Bild der therapeutischen Möglichkeiten einer Verhinderung gibt. Bei Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan liegen eben noch besondere Verhältnisse der Avidität vor.

Die Prüfung von Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan bei den spezifisch Salvarsan-festen Trypanosomenstämmen ergah nun, daß beide Präparate noch einen deutlichen Einfluß auf diese besitzen. Als Beispiele seien die folgenden Versuche Nr. 1 und Nr. 2 mitgeteilt.

¹⁾ Auf diese Versuche wird an anderer Stelle näher eingegangen.

Versuchsbeispiel 1. (12. I.) 14 Mäuse subkutan infiziert mit 0,2 ccm einer trypanosomenhaltigen Blutaufschwemmung, die pro Gesichtsfeld 5 bis 6 Parasiten zeigt.

Stamm: Nagana Salvarsan-fest I/28.

Nach 48 Stunden Behandlung. Dosis: 1,0/20 g subkutan.

Maus Nr.	Ge- wicht	Stand der In- fektion	Behandlung mit		Präp	Befund am Tage (nach Behandlung)									
			Dosis ccm	Konzen- tration		1	2	4	5	6	8	9	11	13	
1	18 g	++	0,9	1 : 100	Myo- Salvarsan	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2	12 g	++	0,6			0	0	+++	†						
3	19 g	++	0,95	1 : 250		+++	+++	†							
4	14 g	++	0,7			+++	+++	†							
5	14 g	++	0,7	1 : 500		+++	†								
6	18 g	++	0,9			+++	†								
7	13 g	++	0,65	1 : 100	Solo- Salvarsan	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8	13 g	++	0,9			0	0	0	† ¹⁾						
9	17 g	++	0,85	1 : 250		(+)	0	0	0	0	++	†			
10	14 g	++	0,7			(+)	0	0	0	0	0	0	0	0	
11	13 g	++	0,65	1 : 500		++	+++	†							
12	19 g	++	0,95			++	+	0	(+)	++	†				
13	15 g	++	0,75	1 : 200	Salvarsan	+++	+++	++	+++	†					
14	16 g	++	0,8			†	-	-	-	-					

Versuchsbeispiel 2. (12. I.) 14 Mäuse subkutan infiziert mit 0,2 ccm trypanosomenhaltiger Blutaufschwemmung, die pro Gesichtsfeld 5 bis 6 Parasiten enthält.

Stamm: Nagana Salvarsan-fest II/31.

Nach 48 Stunden Behandlung. Dosis: 1,0/20 g subkutan.

Maus Nr	Ge- wicht	Stand der In- fektion	Behandlung mit		Präp	Befund am Tage (nach Behandlung)							
			Dosis ccm	Konzen- tration		1	2	4	6	7	9	11	13
1	17 g	++	0,85	1 : 100	Myo- Salvarsan	++	+++	†					
2	14 g	++	0,7			+	0	0	0	(+)	†		
3	13 g	++	0,9	1 : 250		+++	+++	†					
4	15 g	++	0,75			+++	+++	†					
5	15 g	++	0,75	1 : 500		+++	†						
6	18 g	++	0,9			+++	†						
7	15 g	++	0,75	1 : 100	Solo- Salvarsan	0	0	0	0	0	0	0	0
8	17 g	++	0,85			0	0	0	(+)	++	†		
9	15 g	++	0,75	1 : 250		0	0	0	0	0	0	0	0
10	19 g	++	0,95			++	0	0	0	0	0	0	0
11	14 g	++	0,7	1 : 500		++	+++	†					
12	15 g	++	0,75			+++	+++	†					
13	14 g	++	0,7	1 : 200	Salvarsan	+++	†						
14	15 g	++	0,75			+++	†						

²⁾ Interkurrent, trypanosomenfrei.

Die Beispiele lassen ohno weiteres erkennen, daß die Avidität von Myo-Salvarsan bzw. Solu-Salvarsan in der Beeinflussung der Salvarsan-festen Trypanosomen deutlich zum Ausdruck kommt. Salvarsan (und ebenso Neosalvarsan und andere Arsenikalien; vgl. Tabelle 1) wirken nicht mehr, während Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan eine kurative, gelegentlich auch nur trypanozide (Rezidiv) Wirkung besitzen. Der ältere Stamm I/28 ist etwas besser beeinflussbar als der erst kürzlich gefestigte II/31. Man erhält bei dem ersteren mit 10 mg Myo-Salvarsan/20 g Heilung, während Solu-Salvarsan in der Dosis von 4 mg/20 g noch den gleichen Effekt zeigt, ja sogar mit 2 mg noch eine angedeutete Wirksamkeit besitzt. Bei Stamm II/31 erzielt man mit Myo-Salvarsan nur trypanozide Wirkung mit Rezidiv. Rezidive kommen — wie Beispiel 2 zeigt — gelegentlich auch bei Solu-Salvarsan vor, jedoch ist dieses Präparat auch bei kleinerer Dosis noch sicher wirksam.

Man könnte daran denken, daß diese höhere Avidität von Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan auf einem höheren Arsengehalt beruht, der höhere Wirkung und Durchbrechung der Arzneifestigkeit mit sich bringe. Das ist nicht der Fall, müßte sich ja auch in den Versuchen mit normalen Trypanosomen auswirken. Vielmehr ist das — hier unwirksame — Salvarsan mit 31 % As die arsenreichste Verbindung, während Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan ungefähr entsprechend dem Neosalvarsan auf einen Arsengehalt von 19—20 % eingestellt werden. Daß trotzdem Myo-Salvarsan und in besonderem Maße das Solu-Salvarsan mit kleinerer Dosis (0,8—1,0 mg As) als Salvarsan (1,5 mg As) noch auf die arzneifesten Trypanosomen wirkt, beruht unzweifelhaft auf einer besonderen gegenseitigen Affinität, die demnach höher ist als bei anderen Arsenohenzolen.

Diese höhere Avidität, die man therapeutisch hoch einschätzen muß, kommt in dem einfachen chemotherapeutischen *zum Ausdruck*. Schon *Morgenroth* und *Halber-*

¹⁾ Auf diese Vau hingewiesen, daß das im Index ausgedrückte

Verhältnis Parasitotropie: Organotropie außer diesem reinen „Kapazitätsfaktor“ noch einen, die spezifische Empfindlichkeit von Erreger und Wirtstier kennzeichnenden „Intensitätsfaktor“ enthalten müßte, und bezeichnen als *Parasitergie* = Parasitotropie \times Empfindlichkeit (Parasit), als *Organergie* = Organotropie \times Empfindlichkeit (Wirt). Praktisch rechnerisch würde sich die Parasitergie am bequemsten ausdrücken lassen als Beziehung zwischen chemotherapeutischem Index beim normalen und Index beim festen Stamm, da die Organergie sich bei Verwendung gleicher Tierarten (weiße Mäuse) nicht ändert und das schwer zu erfassende Moment individueller Giftempfindlichkeit der einzelnen Maus durch den „Massenversuch“ ausgeglichen ist. Berechnet man diesen Aviditätsindex $\%_t N : \%_t F$ (N = normale, F = feste Trypanosomen), so kann man von dem Idealfall ausgehen, daß eine Arsenoverbindung auf Salvarsan-feste Trypanosomen ebensogut wirkt wie auf die normalen Parasiten. Der Aviditätsindex wäre in diesem Falle = 1. Bei der Beurteilung neuer Verbindungen würde ihre Wertigkeit unter Berücksichtigung der Avidität um so höher sein, je mehr dieser Index sich dem Wert 1 nähert.

Betrachtet man die hier geprüften Verbindungen unter diesem Gesichtspunkt, so ergibt sich folgende Gruppierung (Tabelle 2):

Tabelle 2.

Präparat	$\%_t N$	$\%_t F$	N/F
Arsenophenylglycin	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{3}$
Solu-Salvarsan	$\frac{1}{27}$	$\frac{1}{2,5} - \frac{1}{4}$	$\frac{1}{4} - \frac{1}{10}$
Myo-Salvarsan	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{1,3}$	$\frac{1}{23}$
Neosalvarsan	$\frac{1}{42}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{42}$
Salvarsan	$\frac{1}{40}$	$\frac{2}{1}$	$\frac{1}{80}$

Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan sind, wie die Übersicht zeigt, durch ihre Eigenschaft der Avidität dem Arsenophenylglycin zugeordnet, während ihr Wirkungsgrad gegenüber

Die Beispiele lassen ohne weiteres erkennen, daß die Avidität von Myo-Salvarsan bzw. Solu-Salvarsan in der Beeinflussung der Salvarsan-festen Trypanosomen deutlich zum Ausdruck kommt. Salvarsan (und ebenso Neosalvarsan und andere Arsenikalien; vgl. Tabelle 1) wirken nicht mehr, während Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan eine kurative, gelegentlich auch nur trypanozide (Rezidiv) Wirkung besitzen. Der ältere Stamm I/28 ist etwas besser beeinflussbar als der erst kürzlich gefestigte II/31. Man erhält bei dem ersteren mit 10 mg Myo-Salvarsan/20 g Heilung, während Solu-Salvarsan in der Dosis von 4 mg/20 g noch den gleichen Effekt zeigt, ja sogar mit 2 mg noch eine angedeutete Wirksamkeit besitzt. Bei Stamm II/31 erzielt man mit Myo-Salvarsan nur trypanozide Wirkung mit Rezidiv. Rezidive kommen — wie Beispiel 2 zeigt — gelegentlich auch bei Solu-Salvarsan vor, jedoch ist dieses Präparat auch bei kleinerer Dosis noch sicher wirksam.

Man könnte daran denken, daß diese höhere Avidität von Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan auf einem höheren Arsengehalt beruht, der höhere Wirkung und Durchbrechung der Arzneifestigkeit mit sich bringe. Das ist nicht der Fall, müßte sich ja auch in den Versuchen mit normalen Trypanosomen auswirken. Vielmehr ist das — hier unwirksame — Salvarsan mit 31 % As die arsenreichste Verbindung, während Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan ungefähr entsprechend dem Neosalvarsan auf einen Arsengehalt von 19—20 % eingestellt werden. Daß trotzdem Myo-Salvarsan und in besonderem Maße das Solu-Salvarsan mit kleinerer Dosis (0,8—1,0 mg As) als Salvarsan (1,5 mg As) noch auf die arzneifesten Trypanosomen wirkt, beruht unzweifelhaft auf einer besonderen gegenseitigen Affinität, die demnach höher ist als bei anderen Arsenobenzolen.

Diese höhere Avidität, die man therapeutisch hoch einschätzen muß, kommt in dem einfachen chemotherapeutischen Index $\frac{t^*}{t}$ zum Ausdruck. Schon Morgenroth und Halberstadt¹ haben da-

Verhältnis Parasitotropie : Organotropie außer diesem reinen „Kapazitätsfaktor“ noch einen, die spezifische Empfindlichkeit von Erreger und Wirtstier kennzeichnenden „Intensitätsfaktor“ enthalten müßte, und bezeichnen als *Parasitergie* = Parasitotropie \times Empfindlichkeit (Parasit), als *Organergie* = Organotropie \times Empfindlichkeit (Wirt). Praktisch rechnerisch würde sich die Parasitergie am bequemsten ausdrücken lassen als Beziehung zwischen chemotherapeutischem Index beim normalen und Index beim festen Stamm, da die Organergie sich bei Verwendung gleicher Tierarten (weiße Mäuse) nicht ändert und das schwer zu erfassende Moment individueller Giftempfindlichkeit der einzelnen Maus durch den „Massenversuch“ ausgeglichen ist. Berechnet man diesen Aviditätsindex $\% N : \% F$ (N = normale, F = feste Trypanosomen), so kann man von dem Idealfall ausgehen, daß eine Arsenoverbindung auf Salvarsan-feste Trypanosomen ebensogut wirkt wie auf die normalen Parasiten. Der Aviditätsindex wäre in diesem Falle = 1. Bei der Beurteilung neuer Verbindungen würde ihre Wertigkeit unter Berücksichtigung der Avidität um so höher sein, je mehr dieser Index sich dem Wert 1 nähert.

Betrachtet man die hier geprüften Verbindungen unter diesem Gesichtspunkt, so ergibt sich folgende Gruppierung (Tabelle 2):

Tabelle 2.

Präparat	$\% N$	$\% F$	N/F
Arsenophenylglycin	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{3}$
Solu-Salvarsan	$\frac{1}{27}$	$\frac{1}{2,5} - \frac{1}{3}$	$\frac{1}{4} - \frac{1}{10}$
Myo-Salvarsan	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{1,5}$	$\frac{1}{23}$
Neosalvarsan	$\frac{1}{42}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{42}$
Salvarsan	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{40}$

Myo-Salvarsan und Solu-Salvarsan sind, wie die Übersicht zeigt, durch ihre Eigenschaft der Avidität dem Arsenophenylglycin zugeordnet, während ihr Wirkungsgrad gegenüber

normalen Erregern demjenigen von Salvarsan angenähert ist. So besitzen sie die beiden grundlegenden therapeutischen Fähigkeiten, die man bisher nicht in einer Verbindung vereinigt kannte. Zwar läßt sich die praktische Bedeutung dieser Sonderstellung noch nicht klar umreißen, doch erscheint es nicht ausgeschlossen, daß diese Fähigkeit der Wirksamkeit auf Krankheitserreger herabgesetzter Empfindlichkeit auch klinisch einmal zur Geltung kommen kann. Dann sind Verbindungen dieser Art, die mit guter Wirksamkeit auf Spirochäten auch eine hohe Verträglichkeit im Gewebe vereinigen, vielleicht berufen, auf dem Gebiete der Luesbehandlung das zu erfüllen, was *Ehrlich* vom Arsenophenylglycin erhofft hatte.

Auswahl aus dem Schrifttum

Ehrlich: Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie. Leipzig 1909.

Kolle: Die staatliche Prüfung der Salvarsanpräparate und ihre experimentellen Grundlagen. (Mit *Leupold*.) ¹Arbeiten aus dem Georg-Speyer-Haus Nr. 18, 1927.

Kolle: Über Myo-Salvarsan. Deutsche med. Wschr. 1927.

Morgenroth und *Halberstädter*: Sitzungsbericht d. Kgl. Preuß. Akademie der Wissenschaften 38, 732, 1910

McCoy and *Probey*: Public health reports 45, 1716, 1930.

Schnitzer. Die spezifische Arzneifestigkeit. Erg. d. Hyg Bd. 13, 1932.

Yorke: Studies in chemotherapy. III—X. Ann. trop. med. a. parasitol, Bd. 24—27, 1930—1933.

Die Chemoprophylaxe der Malaria

DR. WALTER KIKUTH

Aus dem Chemotherapeutischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Die grundlegenden Erfolge der Malariaforschung am Ausgang des vorigen Jahrhunderts, die zur Entdeckung der Malaria-parasiten und zur Erkenntnis des Wirtwechsels der Erreger zwischen Mensch und Mücke geführt hatten, erweckten die Hoffnung, im Kampfe gegen die Seuche erfolgreich zu sein. *Ronald Ross* glaubte durch Vernichtung der Mücken dieses Ziel zu erreichen, *Robert Koch* hoffte durch Chininbehandlung erfolgreich diesen Weg zu beschreiten. Beide Überlegungen waren theoretisch begründet. In der Praxis haben beide mehr oder weniger versagt. Trotz der aufgewandten Mühe blieben die Erfolge hinter den hochgesteckten Erwartungen zurück. Nur unter ganz besonders günstigen örtlichen und organisatorischen Bedingungen konnten Teilerfolge erzielt werden, die zu einer Verallgemeinerung keinen Anlaß geben.

Den *Ross*schen Mückenkämpfungsmethoden blieb ein durchschlagender Erfolg versagt, weil es technisch sehr schwierig ist den Anophelismus wesentlich zu verringern. Ein noch so kleiner übersehener Mückenbrutplatz kann als Infektionsquelle ein ganzes Dorf verseuchen; und ein mechanischer Schutz gegen Mückenstich ist nur bei einer hochkultivierten Bevölkerung mit Erfolg durchführbar.

Vielversprechender schien es, die Malariaparasiten im menschlichen Organismus nach den Ideengängen von *Robert Koch* anzugreifen. Im Chinin besaß man seit langem ein Heilmittel, das die Parasiten vernichtete. Dieser Kampf konnte auf zweierlei Weise geführt werden: Entweder mußte man durch eine Chininbehandlung die im Blut des erkrankten Menschen kreisenden Malariaparasiten vernichten oder durch eine Chemoprophylaxe die in den Organismus eindringenden Keime unschädlich machen.

normalen Erregern demjenigen von Salvarsan angenähert ist. So besitzen sie die beiden grundlegenden therapeutischen Fähigkeiten, die man bisher nicht in einer Verbindung vereinigt kannte. Zwar läßt sich die praktische Bedeutung dieser Sonderstellung noch nicht klar umreißen, doch erscheint es nicht ausgeschlossen, daß diese Fähigkeit der Wirksamkeit auf Krankheitserreger herabgesetzter Empfindlichkeit auch klinisch einmal zur Geltung kommen kann. Dann sind Verbindungen dieser Art, die mit guter Wirksamkeit auf Spirochäten auch eine hohe Verträglichkeit im Gewebe vereinigen, vielleicht berufen, auf dem Gebiete der Luesbehandlung das zu erfüllen, was *Ehrlich* vom Arsenophenylglyein erhofft hatte.

Auswahl aus dem Schrifttum

Ehrlich: Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie. Leipzig 1909.

Kolle: Die staatliche Prüfung der Salvarsanpräparate und ihre experimentellen Grundlagen. (Mit *Leupold*.) Arbeiten aus dem Georg-Speyer-Haus Nr. 18, 1927.

Kolle: Über Myo-Salvarsan. Deutsche med. Wschr. 1927.

Morgenroth und *Halberstädter*. Sitzungsbericht d. Kgl. Preuß. Akademie der Wissenschaften 38, 732, 1910.

McCoy and *Probey*. Public health reports 45, 1716, 1930

Schnitzer: Die spezifische Arzneifestigkeit. Erg. d. Hyg. Bd. 13, 1932.

Yorke: Studies in chemotherapy. III—X. Ann. trop. med. a. parasitol., Bd. 24—27, 1930—1933.

Die Chemoprophylaxe der Malaria

DR. WALTER KIKUTH

Aus dem Chemotherapeutischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Die grundlegenden Erfolge der Malariaforschung am Ausgang des vorigen Jahrhunderts, die zur Entdeckung der Malaria-parasiten und zur Erkenntnis des Wirtwechsels der Erreger zwischen Mensch und Mücke geführt hatten, erweckten die Hoffnung, im Kampfe gegen die Seuche erfolgreich zu sein. *Ronald Ross* glaubte durch Vernichtung der Mücken dieses Ziel zu erreichen, *Robert Koch* hoffte durch Chininbehandlung erfolgreich diesen Weg zu beschreiten. Beide Überlegungen waren theoretisch begründet. In der Praxis haben beide mehr oder weniger versagt. Trotz der aufgewandten Mühe blieben die Erfolge hinter den hochgesteckten Erwartungen zurück. Nur unter ganz besonders günstigen örtlichen und organisatorischen Bedingungen konnten Teilerfolge erzielt werden, die zu einer Verallgemeinerung keinen Anlaß geben.

Den *Ross*schen Mückenbekämpfungsmethoden blieb ein durchschlagender Erfolg versagt, weil es technisch sehr schwierig ist den Anophelismus wesentlich zu verringern. Ein noch so kleiner übersehener Mückenbrutplatz kann als Infektionsquelle ein ganzes Dorf verseuchen; und ein mechanischer Schutz gegen Mückenstich ist nur bei einer hochkultivierten Bevölkerung mit Erfolg durchführbar.

Vielversprechender schien es, die Malariaparasiten im menschlichen Organismus nach den Idecugängen von *Robert Koch* anzugreifen. Im Chinin besaß man seit langem ein Heilmittel, das die Parasiten vernichtete. Dieser Kampf konnte auf zweierlei Weise geführt werden: Entweder mußte man durch eine Chininbehandlung die im Blut des erkrankten Menschen kreisenden Malariaparasiten vernichten oder durch eine Chininprophylaxe die in den Organismus eindringenden Keime unschädlich machen.

In heiden Richtungen erstanden Enttäuschungen. Italienische Forscher [*Bignami* und *Bastianelli* (1899), *Gualdi* und *Martiano* (1901)] fanden in der Mehrzahl der mit Chinin erfolgreich behandelten Fälle ein Überleben der geschlechtlich differenzierten Parasiten der gefürchtetsten und am meisten verbreitetsten Malaria tropica. Diese Formen, die zwar keine Krankheitserscheinungen auslösen, mußten als eine weiter bestehende Infektionsquelle der Mücken aufgefaßt werden.

Ebenso schnell brach sich die Erkenntnis Bahn, daß keine der sehr zahlreichen Methoden der Chininprophylaxe mit Sicherheit eine Infektion verhüten konnte. Je mehr die Chininprophylaxe sich einer Therapie nähert, desto erfolgreicher verspricht sie zu sein. Mit anderen Worten: die Chininprophylaxe ist symptomatisch und nicht kausal bedingt. W. York und Macfie (1924) fanden Chinin gegenüber den eindringenden Sichelkeimen der Malaria parasiten wirkungslos. Die symptomatische Schutzwirkung der Chininprophylaxe beruht auf der therapeutischen Eigenschaft des Chinins.

Mit Einführung des Plasmochin in die Malariatherapie wurde ein grundlegender Wandel geschaffen. Mühlens (1926) und Roehl (1927) erkannten unabhängig voneinander die gametozide Eigenschaft des neuen Heilmittels. Amerikanische Autoren [*Barber* und *Komp* (1927), *Barber*, *Komp* und *Newman* (1928)] ergänzten diese Befunde. Ganz kleine Plasmochin-Dosen genügen, um die Geschlechtsformen der Malaria tropica, ohne sie zu töten, für die weitere Entwicklung in der Mücke unschädlich zu machen. Nach den sehr exakten Untersuchungen von Jerace und Giovannola (1933) ist eine einzige wöchentliche Dosis von 0,02 g Plasmochin imstande, die Entwicklung von *P. falciparum* in der Mücke für die Dauer von 7 Tagen zu verhindern. Diese Feststellungen liefern festumrissene Unterlagen für eine wirksame Bekämpfung der Malaria. In der Tat sind damit in der Praxis große Erfolge erzielt worden, die mit Chinin allein nicht möglich gewesen wären.

Die Frage einer kausalprophylaktischen Wirkung des Plasmoebin, nämlich die Entwicklung der eingedrungenen Sichelkeime zu verhüten, wurde auf Grund von experimentellen Untersuchungen an künstlich durch Mückenstiche infizierten Paralytikern von *James, Nicol und Shute* (1931) bejaht. Die von ihnen angewandten Plasmochin-Dosen, die weit größer sind als die Dosen, welche in der Praxis allgemein verwendet werden, werden aber namentlich bei längerer Darreichung schlecht vertragen. Diese Versuche lassen deshalb keine Schlußfolgerung für die Praxis zu, umsomehr, als *Swellengrebel und Buck* (1931) zeigten, daß die üblichen therapeutischen Dosen in dieser Beziehung bei Paralytikern wirkungslos sind. Später mußten dann *James, Nicol und Shute* (1932) ihre ersten günstigen Ergebnisse einer Revision unterziehen. Die Hälfte der von ihnen mit Malaria tertiana infizierten, prophylaktisch während der Inkubationszeit behandelten und lange Zeit gesund gebliebenen Personen erkrankte nach einer 7—9monatigen Latenzzeit an regelrechten Malariaanfällen.

Ohgleich damit einwandfrei gezeigt werden konnte, daß auch das Plasmoebin keine kausale prophylaktische Wirkung besitzt, so soll damit keineswegs gesagt werden, daß das Plasmoebin prophylaktisch in der Praxis unzweckmäßig ist. Denn die bei Paralytikern gemachten Beobachtungen, die über schlechte Immunitätsverhältnisse verfügen, haben für die Praxis nur einen bedingten Wert. Es sei deshalb in diesem Zusammenhang auf die Arbeiten von *Ottolenghi und Brotzu* (1929) hingewiesen, die bei einer längeren Praeventivkur mit Plasmochin sehr oft Heilung oder eine sehr lang andauernde Latenz der Infektion erzielen konnten.

Sehr erfolgreich verliefen auch die von *Rice* (1932) bei Eingeborenen in Liberia durchgeführten Versuche. Mit einer täglichen Dosis von 0,03 g Plasmochin bei einer über zwei Monate ausgedehnten Behandlung gelang es in 100 % der Fälle, eine Infektion zu verhüten. Alle diese Ergebnisse sind auf eine bisher

noch unbekannte Eigenschaft, die vielleicht mit der therapeutischen Wirkung in Zusammenhang gebracht werden kann, zurückzuführen.

Kausal prophylaktisch wirkt das Plasmochin nicht. Die Vogel malaria (Proteosoma) wird oft zur Lösung der verschiedensten Fragen der Malariaforschung herangezogen. Das Studium an der Vogel malaria hat epidemiologische, immunbiologische und chemotherapeutische Erkenntnisse gebracht. Auch die Frage der Chemoprophylaxe wird im Testmodell der Vogel malaria der Lösung nähergebracht werden. *Russel* und *Nono* (1932), *Tate* und *Vincent* (1933) und *Kikuth* und *Giovannola* (1933) fanden das Plasmochin gegen die Sporozoiten von Proteosoma wirkungslos. Seltsam genug, denn bei derselben Versuchstechnik, nur mit dem Unterschied, daß die Infektion nicht durch Mückenstiche sondern durch krankes Blut übertragen wird, entfaltet das Plasmochin eine ganz erstaunliche Wirksamkeit.

Gleich nach Einführung des Atehrin in den Schatz der Malariaheilmittel ist die Frage der Prophylaxe auch bei diesem Therapeuticum aufgeworfen worden. *Mühlens* und *Fischer* (1932) meinten, daß das Atehrin prophylaktisch brauchbar sei, weil es nur sehr verzögert aus dem Organismus ausgeschieden wird. *Soesilo*, *Gilbert* und *Bagindo* (1933) wendeten das Atehrin prophylaktisch in der Praxis an und fanden eine gewisse vorheugende Wirkung. Die wenigen Fälle, bei denen es trotz Atebrin-Verabreichung zur Infektion gekommen ist, heweisen jedoch das sporozoitozide Versagen dieses Schizontenmittels.

Im gleichen Sinne sprechen die Versuche von *James*. Atehrin gleich nach den Mückenstichen während der Inkubationszeit gegeben, verhinderte die Infektion nicht. Die Fieberanfälle traten jedoch durchschnittlich erst nach Ablauf von 33 Wochen auf.

Theoretisch ist die Frage der prophylaktischen Atebrin-Wirkung bei der Vogel malaria von *Kikuth* und *Giovannola* (1933)

in Angriff genommen. Die Versuche wurden den natürlichen Verhältnissen entsprechend durch die Speicheldrüseninfektion der Mücken an Kanarienvögeln durchgeführt. Das Ergebnis war in vielfacher Hinsicht interessant. Die Wirkung des Atebrin war eine andere, als die des Chinin oder Plasmochin. Im Gegensatz zu den Kontrolltieren oder den mit Chinin oder Plasmochin geschützten Tieren war die Inkubationszeit bei den prophylaktisch mit Atebrin behandelten Vögeln wesentlich verlängert.

Ganz besonders charakteristisch war das Auftreten von nur spärlichen Parasiten. Es fanden sich mit wenigen Ausnahmen während einer mehrwöchigen Beobachtungszeit im Gesichtsfeld nur ganz wenige Parasiten, die z. T. morphologisch krankhafte Veränderungen aufwiesen. Ein akutes Krankheitsstadium mit zahlreichen Parasiten und schwerer Anämie trat überhaupt nicht auf. Nach einer verlängerten Inkubationszeit nimmt die Krankheit gleich von Anfang an einen chronischen Verlauf. Während sonst Todesfälle gar nicht so selten sind, bleiben die Tiere klinisch gesund.

Diese eigenartige und in gewissem Sinne schützende Wirkung des Atebrin glauben *Kikuth* und *Giovannola* auf die verzögerte Ausscheidung des Heilmittels zurückführen zu können.

Das Atebrin unterliegt nämlich nach den Untersuchungen von *Hecht* (1933) im tierischen Organismus einem inneren Kreislauf. Ein Teil dieser Substanz wird von der Leber mit der Galle ausgeschieden und vom Darm dann zurückresorbiert.

Höchstwahrscheinlich ist der vom Atebrin erzeugte Schutz in Wirklichkeit nichts anderes als eine therapeutische Wirkung, die durch das lange Verweilen dieser Substanz im Organismus bedingt ist. Die vom Körper zurückgehaltene Atebrin-Menge genügt, nach Abschluß der Inkubationsperiode die schrankenlose Vermehrung der Parasiten zu vereiteln, den Infektionsverlauf einzudämmen; sie reicht aber nicht aus, das Auftreten derselben zu verhindern. Eine Wirkung auf die Sporozoiten oder auf die

sich entwickelnden Formen kommt schon deshalb nicht in Betracht, weil die Infektion bei sämtlichen Vögeln unter denselben Bedingungen angeht.

Ebenso wie alle anderen bisher bekannten Malariamittel ist auch das Atebrin kein kausales Prophylaktikum. Seine symptomatische schützende Wirkung ist jedoch eine seiner charakteristischen Eigenschaften.

Analogieschlüsse können oft zu Enttäuschungen führen, trotzdem ist der Chemotherapeut angewiesen, sich ihrer zu bedienen. Die Hoffnung ist deshalb berechtigt, daß das Atebrin bei der Malaria des Menschen eine dem Chinin überlegene symptomatische prophylaktische Wirkung ausüben wird.

Über Beziehungen von Kunststoffen zur Medizin

DR. WALTER KROPP

Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG,
Werk Elberfeld

Die Drogen — also Naturstoffe — waren die ersten organischen Heilmittel. Sie wurden auf Grund reiner Empirie gefunden. Ihre wissenschaftliche Erforschung begann mit der Reinigung und Isolierung der einzelnen Bestandteile und brachte die Erkenntnis der wirksamen Prinzipien und Atomgruppierungen. Wenn auch die Vorstellung hierüber vielfach noch unklar war, so gab sie doch der synthetischen Chemie einen starken Impuls. Der künstliche Aufbau der natürlichen Heilmittel selber erschien zunächst meist zu schwierig und man suchte an analogen, einfacheren Substanzen nach ähnlichen Wirkungen. Dieser Weg führte zu systematischen, pharmakologischen Untersuchungen ganzer Körperklassen und brachte solche Fortschritte, daß die natürlichen Arzneimittel mehr und mehr von den künstlichen Produkten zurückgedrängt wurden.

Die Verwendung von Kunststoffen in der Medizin hat sich nicht in gleicher Weise entwickelt und blieb auf einen geringen Umfang beschränkt. Während z. B. die Kunstseide in der Textilindustrie eine ungeheure Verbreitung fand, vermochte sie auf medizinischem Gebiete keinen Fuß zu fassen, obwohl E. Kottlors und O. Irion sie neuerdings als Nahtmaterial in der Chirurgie untersucht haben und ihre keimhemmende Wirkung loben.

Der Konkurrenzkampf der Kunststoffe gegen die natürlichen Rohstoffe ist ungemein viel schwieriger als der zwischen den synthetischen Arzneimitteln und Drogen. Hier spielt der Preis meist eine untergeordnete, dort eine ausschlaggebende Rolle. Starke Marktschwankungen der Rohstoffe sind besonders bedrohlich für die Herstellung der Kunststoffe und werfen oft jede Kalkulation über den Haufen.

Hierzu ein krasses Beispiel.

Im Jahre 1910, als sich *Fritz Hofmann* und *Coutelle* in den Elberfelder Laboratorien mit der Synthese des künstlichen Kautschuks besehäftigten, erreichte das Naturprodukt einen Höchstpreis von über Mk. 28.— pro Kilo, und im Jahre 1933 kam der Kilopreis bis auf etwa 28 Pfennig herunter. Damals versprach selbst eine verwickeltere Bereitung des hochmolekularen Stoffes noch reichlichen Nutzen, während bei dem heutigen Tiefstand die einfachste Synthese aussichtslos erseheint.

Die Kunststoffe haben daher meist ihre Entstehungs- und Blütezeit in den Perioden der Rohstoffverknappung. In Deutschland war dies in besonderem Maße in der Kriegs- und Nachkriegszeit der Fall, und es ist noch in lebhafter Erinnerung, wieviel Ersatzprodukte auftauchten. Eine vollständige Aufzählung solcher Stoffe, wie sie für die Medizin in Betracht kamen, soll hier nicht gegeben werden, es möge ein Beispiel genügen.

In der pharmazeutischen Praxis ergab sich damals ein besonderer Mangel an Salbengrundlagen. Einer der wenigen Rohstoffe, die Deutschland zur Verfügung standen, war die Koble. Diese diente als Ausgangsmaterial für ein neues, künstliches Salbenprodukt, das unter dem Namen „Laneps“ in den Handel kam. Als Hauptbestandteile unter den Produkten der Kohlendestillation finden sich Benzolkohlenwasserstoffe und Naphthalin. Durch Chlorieren solcher Benzolkohlenwasserstoffe wie Toluol und Xylol gelangt man zu Benzyl- bzw. Xylylchlorid. Läßt man diese bei Gegenwart geringer Mengen von Katalysatoren auf Naphthalin einwirken, so findet eine äußerst lebhafte Reaktion unter Abspaltung von Salzsäure statt und es entsteht ein Gemisch von Benzyl- bzw. Xylynaphthalinen, aus dem man sowohl α -, als auch β - und polysubstituierte Naphthaline isolieren kann. Nach einem Reinigungs- und Klärungsprozeß erhält man ein vollkommen geruchloses, nngiftiges, hellgelbes Öl von hohem Brennpunkt und hoher Viskosität. Ändert man die Mengenverhältnisse bei der Herstellung, so kann man die Beschaffenheit des Öles, besonders die Viskosität, variieren. Durch Zusatz von

Bienenwachs und Paraffin zu dem beschriebenen Öl gelang es, eine Salbengrundlage zu schaffen, die allen Ansprüchen genügte, insbesondere sich auch durch eine gute Wasseraufnahmefähigkeit auszeichnete.

Es sei noch erwähnt, daß eine Mischung des künstlichen Öles mit Äthylcellulose sich zu schmiegsamen Folien auswalzen läßt. Diese dienen an Stelle von Guttapercha zu Verbandzwecken.

Es finden sich Beziehungen zwischen Kunststoffen und Medizin, die nicht offen zu Tage liegen. Auch diese sollen an einem Beispiel erläutert werden, und zwar an der Herstellung des künstlichen Kautschuks.

Der natürliche Kautschuk ist aus Isoprenmolekülen aufgebaut. Im Jahre 1909 gelang es *Hofmann* zuerst, durch Erwärmen von synthetisch gewonnenem, reinem Isopren künstlichen Kautschuk herzustellen.

Es ist interessant, daß das Isopren auch zu anderen Naturprodukten in naher Beziehung steht. Sein Dimeres findet sich in vielen ätherischen Ölen. Auf die Beziehungen des Isoprens zum Chlorophyll und den Carotininen haben zuerst *Willstätter*, *Mayer* und *Hün*i aufmerksam gemacht. Nach *Kuhn* und *Winterstein* (Helv. Chimica Acta 11, S. 430) bilden sich in der Pflanze die offenkettigen Abkömmlinge des Isoprens auf dreierlei Art:

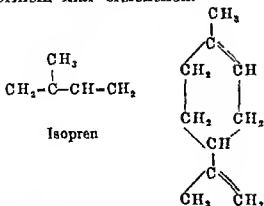
„Durch direkte Addition der C_5H_8 -Reste, die zu höheren Terpenen führt;

durch Addition und gleichzeitige Hydrierung, wie sie *R. Willstätter* bei der Bildung des Phytols angenommen hat;

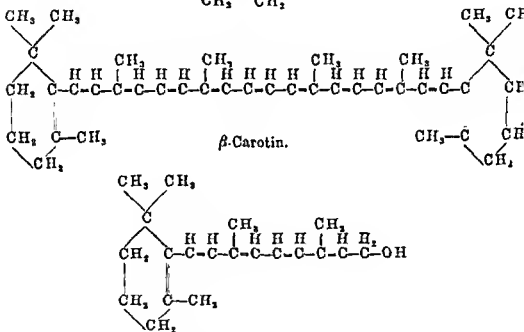
durch Addition der C_5H_8 -Reste unter gleichzeitiger Dehydrierung, wobei Pigmente mit konjugierten Doppelbindungen gebildet werden.“

Die Carotine benötigen als Bausteine acht Isoprenmoleküle, das Wachstumsvitamin A, das sich durch Oxydation aus den Carotininen bilden kann, gebraucht nach der Formel von *Karrer* nur die Hälfte.

Die Zusammenhänge sind aus einer Gegenüberstellung der Formeln klar ersichtlich.



Dipenten
(inaktives Limonen)



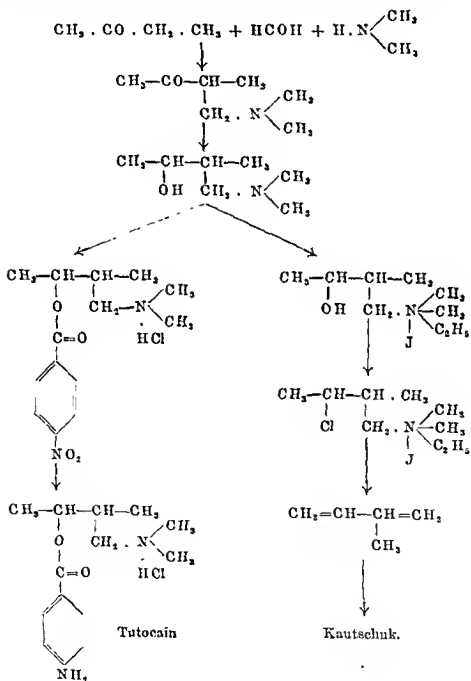
Wachstumsvitamin A.

Demnach ist das Isopren als Baustein für viele wichtige Naturprodukte anzusehen.

Von den zahlreichen Synthesen, die zur Bereitung des Isoprens ausgeführt worden sind, soll hier nur eine erwähnt werden und zwar deshalb, weil sie gleichzeitig zu einem bekannten pharmazeutischen Produkt, dem Lokalanaesthetikum *Tutocain*, geführt hat.

Als Ausgangsstoffe dienen Methyläthylketon, Formaldehyd und Dimethylamin. Das gemeinsame Zwischenprodukt bildet das 2-Methyl-3-Oxybutyldimethylamin.

Durch Einwirkung von Nitrobenzoylchlorid und Reduktion gelangt man einerseits zum **Tutocain**, während andererseits durch Anlagerung von Halogenalkyl, Austausch der OH-Gruppe durch Halogen, *Hofmann*sehen Abbau und Abspaltung von Halogenwasserstoff Isopren entsteht, das sich in Kautschuk überführen läßt. Die folgenden Formelbilder erläutern den Vorgang.



Als es *Fritz Hofmann* (Zeitschr. f. angew. Chemie 1912, S. 1465) gelungen war, durch Erhitzen von Isopren künstlichen Kautschuk zu gewinnen, konnte er auch zeigen, daß die Homologen des Isoprens sich zu analogen Kautschuken polymerisieren lassen. Aus dem β -, γ -Dimethylbutadien entstand der Methylkautschuk, der im Kriege im allergrößten Maße hergestellt wurde, und zwar in Form des Methylkautschuk W (für Weichgummiwaren) und des Methylkautschuk H (für Hartgummi). Es zeigte sich dabei, daß der Methylkautschuk H für Zahngummi besser verwendbar ist als der natürliche, da die Prothesen aus ihm leichter und stabiler werden.

Aus dem Erythron, dem 1,3-Butadien, erhielt man den Nor-kautschuk.

Auch die Polymerisation von zyklischen Substanzen mit konjugierter Doppelbindung wurde versucht. Jedoch zeigte z. B. das Produkt aus Dihydrobenzol keine besonders günstigen Eigenschaften. Dafür führten die Arbeiten über das Dihydrobenzol zum Δ 2,3-Cyclohexenylbromid, das durch Anlagerung von Bromwasserstoff an den Kohlenwasserstoff leicht entsteht. Mit Hilfe des Δ 2,3-Cyclohexenylbromides wurde zum ersten Male eine ungesättigte hydroaromatische Gruppe in das Barbitursäuremolekül eingeführt. Es zeigte sich, daß die Δ 2,3-Cyclohexenyläthylbarbitursäure ein ausgezeichnetes Schlafmittel ist, das vom Körper verhältnismäßig leicht abgehaut wird. Als sich dann ergab, daß die isomere Δ 1,2-Cyclohexenyläthylbarbitursäure in ähnlicher Weise wirkt und billiger in der Herstellung ist, führte man diese unter dem Namen Phanodorm in den Handel ein.

Die Cyclohexenylgruppe hat nenerdings noch eine wichtige Rolle gespielt bei der Synthese des Evipan. Dieses — die C-C-Cyclohexenyl-methyl-N-methylbarbitursäure — wird im Körper erheblich schneller abgebaut als das Durchschlafmittel Phanodorm. Es dient daher als Einschlaf- und Wiedereinschlafmittel. Eine ganz besondere Bedeutung kommt dem leicht löslichen Natriumsalz des Evipan zu. Es ist ein intravenös anwendbares Narkoticum von zuverlässiger Wirkung, das rasch

Eingang in die Chirurgie gefunden hat. (Siehe auch Weese, Medizin und Chemie, Bd. 1, S. 196.)

An einigen Beispielen wurde hier gezeigt, daß chemische Arbeiten, die eigentlich rein technischen Problemen dienen sollten, schließlich auch für die Medizin von Nutzen geworden sind. Es ist für den Synthetiker vorteilhaft, seine Versuche nicht nur in einer Richtung zu entwickeln, sondern zu prüfen, ob seine Erfahrungen nicht auch anderen, ihm fernerliegenden Gebieten zugute kommen können. Daher lohnt es sich, einmal auf an und für sich lose Beziehungen hinzuweisen, wie die zwischen Kunststoffen und Medizin.

Als es *Fritz Hofmann* (Zeitsehr. f. angew. Chemie 1912, S. 1465) gelungen war, durch Erhitzen von Isopren künstlichen Kautschuk zu gewinnen, konnte er auch zeigen, daß die Homologen des Isoprens sich zu analogen Kautschuken polymerisieren lassen. Aus dem β -, γ -Dimethylbutadien entstand der Methylkautschuk, der im Kriege im allergrößten Maße hergestellt wurde, und zwar in Form des Methylkautschuk W (für Weichgummiwaren) und des Methylkautschuk H (für Hartgummi). Es zeigte sich dabei, daß der Methylkautschuk H für Zahngummi besser verwendbar ist als der natürliche, da die Prothesen aus ihm leichter und stabiler werden.

Aus dem Erythren, dem 1,3-Butadien, erhielt man den Nor-kautschuk.

Auch die Polymerisation von zyklischen Substanzen mit konjugierter Doppelbindung wurde versucht. Jedoch zeigte z. B. das Produkt aus Dihydrohenzol keine besonders günstigen Eigenschaften. Dafür führten die Arbeiten über das Dihydrohenzol zum Δ 2,3-Cyclohexonylbromid, das durch Anlagerung von Bromwasserstoff an den Kohlenwasserstoff leicht entsteht. Mit Hilfe des Δ 2,3-Cyclohexenylbromides wurde zum ersten Male eine ungesättigte hydroaromatische Gruppe in das Barbitursäuremolekül eingeführt. Es zeigte sich, daß die Δ 2,3-Cyclohexenyläthylbarbitursäure ein ausgezeichnetes Schlafmittel ist, das vom Körper verhältnismäßig leicht abgebaut wird. Als sich dann ergab, daß die isomere Δ 1,2-Cyclohexenyläthylbarbitursäure in ähnlicher Weise wirkt und billiger in der Herstellung ist, führte man diese unter dem Namen *Phanodorm* in den Handel ein.

Die Cyclohexenylgruppe hat neuerdings noch eine wichtige Rolle gespielt bei der Synthese des *Evipan*. Dieses — die C-C-Cyclohexenyl-methyl-N-methylbarbitursäure — wird im Körper erheblich schneller abgebaut als das Durchschlafmittel *Phanodorm*. Es dient daher als Einsehlaf- und Wiedereinschlafmittel. Eine ganz besondere Bedeutung kommt dem leicht löslichen Natriumsalz des *Evipan* zu. Es ist ein intravenös anwendbares Narkoticum von zuverlässiger Wirkung, das rasch

Eingang in die Chirurgie gefunden hat. (Siehe auch *Weese*, Medizin und Chemie, Bd. 1, S. 196.)

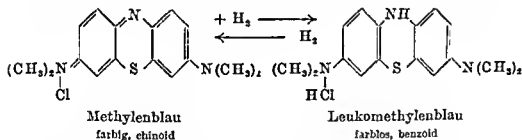
An einigen Beispielen wurde hier gezeigt, daß chemische Arbeiten, die eigentlich rein technischen Problemen dienen sollten, schließlich auch für die Medizin von Nutzen geworden sind. Es ist für den Synthetiker vorteilhaft, seine Versuche nicht nur in einer Richtung zu entwickeln, sondern zu prüfen, ob seine Erfahrungen nicht auch anderen, ihm fernerliegenden Gebieten zugute kommen können. Daher lohnt es sich, einmal auf an und für sich lose Beziehungen hinzuweisen, wie die zwischen Kunststoffen und Medizin.

Über den vitalen Entfärbungsvorgang bei Triphenylmethanfarbstoffen

DR. FRITZ MIETZSCH

Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Man hat seit langem organische Farbstoffe verwendet, um mit ihnen Studien über Stoffverteilung im Organismus zu betreiben. Dabei war das Augenmerk wesentlich auf den Färbungsvorgang und nur untergeordnet auf den Entfärbungsvorgang gerichtet. Man ist aber doch schon auf Farbstoffe gestoßen, bei denen auf die primäre Anfärbung sehr rasch eine Entfärbung folgte, ohne daß diese durch eine besonders rasche Ausscheidung durch Niere oder Galle begründet gewesen wäre. Am Beispiel des Methylenblau hat Ehrlich gezeigt, daß aus diesem Farbstoff im Organismus eine Leukoverbindung gebildet werden kann. Dieser Vorgang ist ein Reduktionsprozeß, der von einer gefärbten chinoiden Verbindung zu einer ungefärbten benzoiden führt:



Das Leukomethylenblau hat aber die Fähigkeit, wieder rückwärts durch Oxydation in Methylenblau überzugehen. Durch Liegenlassen an der Luft, besser noch durch Behandlung mit Eisenchlorid kann man in einzelnen ungefärbten Organen die Blaufärbung wieder hervorrufen und so das Bild der Verteilung und Ausscheidung korrigieren, das bei oberflächlicher Betrachtung unrichtig erscheinen würde.

Spritzt man z. B. 0,5 ccm einer 0,5 %igen Lösung von Methylenblau einer Maus intraperitoneal, so sieht man an Ohren, Schwanz und Beinen nur geringe Blaufärbung. Tötet man nach

6 Stunden und sezirt nach einer weiteren Stunde, so sind Galle und Gallenflüssigkeit schon von vornherein stark blaugrün, Blase und Harn stark blau gefärbt und werden durch Eisenchlorid nur wenig verändert. Hier liegt also der Farbstoff als solcher vor. Dagegen ist der Magen zunächst granrosa, wird aber auf Zusatz von Eisenchlorid intensiv blau. Der anfänglich grauhraune Darm und die hellgraue Thymnsdrüse gehen ebenfalls in ein intensives Blau über. Hier ist also der Farbstoff in Form seiner Lenkoverbindung enthalten. Haut, Muskulatur, Lunge und Gehirn schließlich zeigen mit und ohne Eisenchlorid keine Blaufärbung. Auch die Niere, die nur in der Gegend des Nierenbeckens etwas stärker bläulich erscheint, wird durch Eisenchlorid kaum verfärbt. Hier ist also überhaupt keine Speicherung zu verzeichnen.

Es wäre nun falsch, die am Methylenblau gemachten Beobachtungen zu verallgemeinern und auch bei allen chinoiden Farbstoffen der Di- und Triphenylmethanreihe, bei denen eine rasche Entfärbung eintritt, eine solche Reduktion anzunehmen. Zwar sind alle chinoiden Farbstoffe im Reagensglas durch Reduktionsmittel in die benzoiden Leukoverbindungen überzuführen und umgekehrt wieder zu oxydieren. Daß auch noch andere Ursachen für die rasche Entfärbung verantwortlich sein können, sollen die folgenden Versuche mit Lichtgrün SF (gelblich) und Brillantsäureblau EG zeigen:

Spritzt man einer Maus intraperitoneal 0,5 ccm einer 2 %igen Lichtgrünlösung, so färben sich nach 20 Minuten Ohren, Schwanz und Beine intensiv grün. Diese Färbung klingt aber allmählich ab und ist nach 6 Stunden fast verschwunden. Nach dieser Zeit ist die Galle und die Gallenflüssigkeit intensiv grün, Blase und Harn hellgrün gefärbt. Die dunkelgraue Niere zeigt nur am Nierenbecken bläulichgrüne Verfärbung. Der Darm ist teils graurosa, teils grün, der Darminhalt intensiv grün. Die anderen Organe dagegen sind ungefärbt.

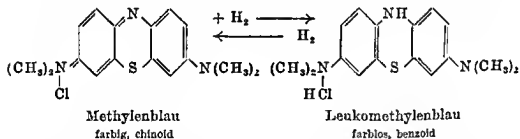
Bisher erscheint der Vorgang also sehr ähnlich wie beim Methylenblau, nur lassen sich statt mit Eisenchlorid hier mit

Über den vitalen Entfärbungsvorgang bei Triphenylmethanfarbstoffen

DR. FRITZ MIETZSCH

Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Man hat seit langem organische Farbstoffe verwendet, um mit ihnen Studien über Stoffverteilung im Organismus zu betreiben. Dabei war das Augenmerk wesentlich auf den Färbungsvorgang und nur untergeordnet auf den Entfärbungsvorgang gerichtet. Man ist aber doch schon auf Farbstoffe gestoßen, bei denen auf die primäre Anfärbung sehr rasch eine Entfärbung folgte, ohne daß diese durch eine besonders rasche Ausscheidung durch Niere oder Galle begründet gewesen wäre. Am Beispiel des Methylenblau hat Ehrlich gezeigt, daß aus diesem Farbstoff im Organismus eine Leukoverbindung gebildet werden kann. Dieser Vorgang ist ein Reduktionsprozeß, der von einer gefärbten chinoiden Verbindung zu einer ungefärbten benzoiden führt:



Das Leukomethylenblau hat aber die Fähigkeit, wieder rückwärts durch Oxydation in Methylenblau überzugeben. Durch Liegenlassen an der Luft, besser noch durch Behandlung mit Eisenchlorid kann man in einzelnen ungefärbten Organen die Blaufärbung wieder hervorrufen und so das Bild der Verteilung und Ausscheidung korrigieren, das bei oberflächlicher Betrachtung unrichtig erscheinen würde.

Spritzt man z. B. 0,5 ccm einer 0,5 %igen Lösung von Methylenblau einer Maus intraperitoneal, so sieht man an Ohren, Schwanz und Beinen nur geringe Blaufärbung. Tötet man nach

6 Stunden und sezirt nach einer weiteren Stunde, so sind Galle und Gallenflüssigkeit schon von vornherein stark blaugrün, Blase und Harn stark blau gefärbt und werden durch Eisenchlorid nur wenig verändert. Hier liegt also der Farbstoff als solcher vor. Dagegen ist der Magen zunächst graurosa, wird aber auf Zusatz von Eisenchlorid intensiv blau. Der anfänglich graubraune Darm und die hellgraue Thymusdrüse gehen ebenfalls in ein intensives Blau über. Hier ist also der Farbstoff in Form seiner Leukoverbindung enthalten. Haut, Muskulatur, Lunge und Gehirn schließlich zeigen mit und ohne Eisenchlorid keine Blaufärbung. Auch die Niere, die nur in der Gegend des Nierenbeckens etwas stärker bläulich erscheint, wird durch Eisenchlorid kaum verfärbt. Hier ist also überhaupt keine Speicherung zu verzeichnen.

Es wäre nun falsch, die am Methylenblau gemachten Beobachtungen zu verallgemeinern und auch bei allen chinoiden Farbstoffen der Di- und Triphenylmethanreihe, bei denen eine rasche Entfärbung eintritt, eine solche Reduktion anzunehmen. Zwar sind alle chinoiden Farbstoffe im Reagensglas durch Reduktionsmittel in die benzoiden Leukoverbindungen überzuführen und umgekehrt wieder zu oxydieren. Daß auch noch andere Ursachen für die rasche Entfärbung verantwortlich sein können, sollen die folgenden Versuche mit Lichtgrün SF (gelblich) und Brillantsäureblau EG zeigen:

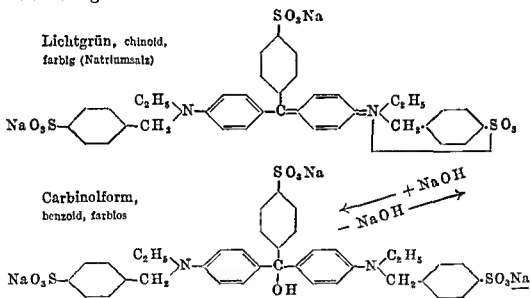
Spritzt man einer Maus intraperitoneal 0,5 ccm einer 2%igen Lichtgrünlösung, so färben sich nach 20 Minuten Ohren, Schwanz und Beine intensiv grün. Diese Färbung klingt aber allmählich ab und ist nach 6 Stunden fast verschwunden. Nach dieser Zeit ist die Galle und die Gallenflüssigkeit intensiv grün, Blase und Harn hellgrün gefärbt. Die dunkelgraue Niere zeigt nur am Nierenbecken bläulichgrüne Verfärbung. Der Darm ist teils graurosa, teils grün, der Darminhalt intensiv grün. Die anderen Organe dagegen sind ungefärbt.

Bisher erscheint der Vorgang also sehr ähnlich wie beim Methylenblau, nur lassen sich statt mit Eisenchlorid hier mit

Eisessig überraschende Farbumschläge an scheinbar ungefärbten Körperteilen hervorrufen.

Die nur spurenweise grünliche Haut wird beim Betupfen mit Eisessig intensiv grün. Die blaßrosa gefärbte Bauchmuskulatur wird durch Eisessig deutlich grün.

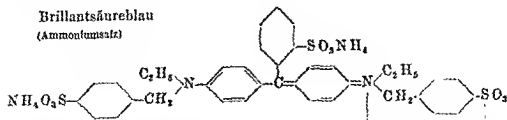
Die Entfärbung im Organismus erklärt sich daraus, daß der Körper das Lichtgrün nicht reduziert, sondern in seine Carbinolform umwandelt. Bei den sauren Triphenylmethan-Farbstoffen gibt es zwei Möglichkeiten, von der chinoiden farbigen Form zur benzoiden farblosen zu gelangen: durch Reduktion zur Leukoverbindung und durch Anlagerung von Alkalien zur Carbinolverbindung:



Der letztgenannte Vorgang läßt sich im Reagensglas durch Zusatz von Ammoniak zur Farbstofflösung sehr gut vorführen. Die Lösung wird rasch fast farblos. — Umgekehrt kann man durch Säurezusatz das angelagerte Alkalihydroxyd wieder abspalten und den ursprünglichen Farbstoff wieder herstellen. Das läßt sich sehr gut durch Zusatz von Essigsäure zur alkalischen Lösung zeigen.

Ganz anders als das Lichtgrün verhält sich das Brillant-säureblau, trotzdem es auch zu den sauren Triphenylmethan-Farbstoffen gehört, sich vom Lichtgrün nur durch die Verschiebung einer Sulfogruppe in einem Benzolkern aus der para-

Stellung in die ortho-Stellung unterscheidet und gegenüber Reduktionsmitteln gleich empfindlich ist.



Spritzt man 0,5 cem einer 2%igen Brillantsäureblau-Lösung einer Maus intraperitoneal, so wird sie schon nach 15 Minuten an Ohren, Schwanz und Beinen schön blaugrün gefärbt. Diese Färbung hält im Gegensatz zum Lichtgrün viel länger an. Nach 6 Stunden sind zwar die Ohren etwas blasser geworden, Schwanz und Beine sind aber noch unvermindert stark gefärbt. Tötet man nach 6 Stunden, so sind Galle und Gallenflüssigkeit intensiv blaugrün, Urether, Blase und Harn mäßig blaugrün gefärbt. Auch die Niere ist eine Spur blau gefärbt. Der Dünndarm ist von der Einmündung des Gallenganges an außerordentlich intensiv farbig. Die Stärke der Färbung nimmt zum Dickdarm hin kontinuierlich ab; der Dickdarm selbst enthält noch keinen Farbstoff.

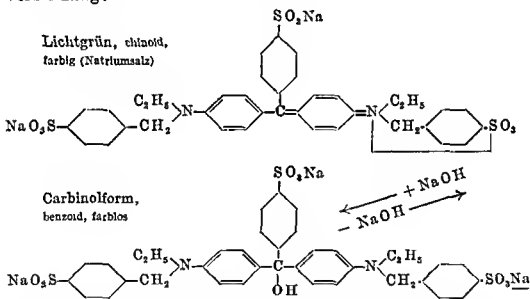
Grundsätzlich unterschiedlich vom Lichtgrünversuch ist aber, daß bei den Organen, wo das Lichtgrün nur durch nachträglichen Eisessigzusatz wieder hervorzurufen war, das Brillantsäureblau gar nicht erst entfärbt worden ist. Die Haut ist beispielsweise schön blaugrün gefärbt und wird durch Betupfen mit Eisessig nicht intensiver, höchstens etwas gelbstichiger (Säureunechtheit!) gefärbt. Die Bauchmuskulatur ist schwach blaugrün und wird in der Farbe durch Eisessig nicht vertieft.

Die Erklärung dafür, daß hier keine Entfärbung eintritt, ist darin zu suchen, daß das Brillantsäureblau zu den alkalischen Triphenylmethan-Farbstoffen gehört, die durch mindestens einen zum zentralen Kohlenstoffatom ortho-ständigen Substituenten, wie z. B. Halogen, Alkyl oder Sulfogruppe, gekennzeichnet sind. Durch Wanderung der Sulfogruppe aus der

Eisessig überraschende Farbumsebläge an secheinbar ungefärbten Körperteilen hervorrufen.

Die nur spurenweise grünliche Haut wird beim Betupfen mit Eisessig intensiv grün. Die blaßrosa gefärbte Bauchmuskulatur wird dureb Eisessig deutlieb grün.

Die Entfärbung im Organismus erklärt sich daraus, daß der Körper das Lichtgrün nicht reduziert, sondern in seine Carbinolform umwandelt. Bei den sauren Triphenylmethan-Farbstoffen gibt es zwei Möglichkeiten, von der chinoiden farbigen Form zur benzoiden farblosen zu gelangen: durch Reduktion zur Leukoverbindung und durch Anlagerung von Alkalien zur Carbinolverbindung:

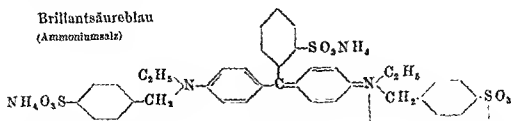


Der letztgenannte Vorgang läßt sich im Reagensglas durch Zusatz von Ammoniak zur Farbstofflösung sehr gut vorführen. Die Lösung wird rasch fast farblos. — Umgekehrt kann man durch Säurezusatz das angelagerte Alkalihydroxyd wieder abspalten und den ursprünglichen Farbstoff wieder herstellen. Das läßt sich sehr gut durch Zusatz von Essigsäure zur alkalischen Lösung zeigen.

Ganz anders als das Lichtgrün verhält sich das Brillantsäureblau, trotzdem es auch zu den sauren Triphenylmethan-Farbstoffen gehört, sich vom Lichtgrün nur durch die Verschiebung einer Sulfogruppe in einem Benzolkern aus der para-

Stellung in die ortho-Stellung unterscheidet und gegenüber Reduktionsmitteln gleich empfindlich ist.

Brillantsäureblau
(Ammoniumsalz)



Spritzt man 0,5 cem einer 2%igen Brillantsäureblau-Lösung einer Maus intraperitoneal, so wird sie schon nach 15 Minuten an Ohren, Schwanz und Beinen schön blaugrün gefärbt. Diese Färbung hält im Gegensatz zum Lichtgrün viel länger an. Nach 6 Stunden sind zwar die Ohren etwas blasser geworden, Schwanz und Beine sind aber noch unvermindert stark gefärbt. Tötet man nach 6 Stunden, so sind Galle und Gallenflüssigkeit intensiv hlaugrün, Urether, Blase und Harn mäßig blaugrün gefärbt. Auch die Niere ist eine Spur blau gefärbt. Der Dünndarm ist von der Einmündung des Gallenganges an außerordentlich intensiv farbig. Die Stärke der Färbung nimmt zum Dickdarm hin kontinuierlich ab; der Dickdarm selbst enthält noch keinen Farbstoff.

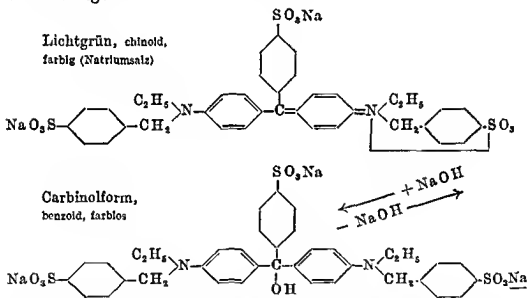
Grundsätzlich unterschiedlich vom Lichtgrünversuch ist aber, daß bei den Organen, wo das Lichtgrün nur durch nachträglichen Eisessigzusatz wieder hervorzurufen war, das Brillantsäureblau gar nicht erst entfärbt worden ist. Die Haut ist beispielsweise schön blaugrün gefärbt und wird durch Betupfen mit Eisessig nicht intensiver, höchstens etwas gelbstiebiger (Säureunechtheit!) gefärbt. Die Bauchmuskulatur ist schwach blaugrün und wird in der Farbe durch Eisessig nicht vertieft.

Die Erklärung dafür, daß hier keine Entfärbung eintritt, ist darin zu suchen, daß das Brillantsäureblau zu den alkalischen Triphenylmethan-Farbstoffen gehört, die durch mindestens einen zum zentralen Kohlenstoffatom ortho-ständigen Substituenten, wie z. B. Halogen, Alkyl oder Sulfogruppe, gekennzeichnet sind. Durch Wanderung der Sulfogruppe aus der

Eisessig überraschende Farbenumschläge an scheinbar ungefärbten Körperteilen hervorrufen.

Die nur spurenweise grünliche Haut wird beim Betupfen mit Eisessig intensiv grün. Die blaßrosa gefärbte Bauchmuskulatur wird durch Eisessig deutlich grün.

Die Entfärbung im Organismus erklärt sich daraus, daß der Körper das Lichtgrün nicht reduziert, sondern in seine Carbinolform umwandelt. Bei den sauren Triphenylmethan-Farbstoffen gibt es zwei Möglichkeiten, von der chinoiden farbigen Form zur benzoiden farblosen zu gelangen: durch Reduktion zur Leuko-Verbindung und durch Anlagerung von Alkalien zur Carbinol-Verbindung:



Der letztgenannte Vorgang läßt sich im Reagensglas durch Zusatz von Ammoniak zur Farbstofflösung sehr gut vorführen. Die Lösung wird rasch fast farblos. — Umgekehrt kann man durch Säurezusatz das angelagerte Alkalihydroxyd wieder abspalten und den ursprünglichen Farbstoff wieder herstellen. Das läßt sich sehr gut durch Zusatz von Essigsäure zur alkalischen Lösung zeigen.

Ganz anders als das Lichtgrün verhält sich das Brillant-säureblau, trotzdem es auch zu den sauren Triphenylmethan-Farbstoffen gehört, sich vom Lichtgrün nur durch die Verschiebung einer Sulfogruppe in einem Benzolkern aus der para-

Zur Photochemie des Ergosterins

DR. OTTO LINSBERT

Aus dem Biochemischen Institut der I. O. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

Im Jahre 1927 fand man, daß das Ergosterin durch Bestrahlen mit ultravioletem Licht in einen antirachitisch hochwirksamen Stoff übergeht. Damit schien das Problem des Vitamin D gelöst zu sein, und man ahnte damals nicht, daß noch fast fünf Jahre vergehen würden, bis es gelang, die wirksame Komponente, das Vitamin D in reiner kristallisierter Form, aus dem bestrahlten Ergosterin zu isolieren. Um die Lösung dieser Aufgabe haben sich neben englischen Forschern hauptsächlich *Windaus* und seine Schule verdient gemacht.

Das Bestrahlungsprodukt des Ergosterins ist ein niedrigschmelzendes, amorphes Harz, dessen analytische Zusammensetzung der des Ergosterins entspricht. Daraus war zu entnehmen, daß bei der photochemischen Umwandlung eine Isomerisierung stattfand. Bei eingehendem Studium des Bestrahlungsvorganges stellte sich bald heraus, daß es sich nicht um eine einfache Umlagerung des Ergosterins in Vitamin D handeln konnte, sondern daß dabei je nach Bestrahlungsart und Bestrahlungsdauer eine ganze Reihe von photochemischen Umwandlungsprodukten gebildet wurde. Man erkannte dieses an der wechselnden Größe der antirachitischen Wirksamkeit, des optischen Drehungsvermögens und vor allem an den komplizierten Änderungen, die das Absorptionsspektrum des Ergosterins während der Bestrahlung erleidet. Zumal in den ersten Jahren, als man sich mit der Bearbeitung der amorphen Vitaminpräparate abmühte, die allen Kristallisationsversuchen widerstanden, schien die optische Untersuchung der Bestrahlungsprodukte fast die einzige Möglichkeit zu bieten, nähere Kenntnis über die Natur des Vitamins D zu vermitteln, da diese Untersuchungsart bei der Auffindung des Ergosterins als des Provitamins sich ausschlaggebend bewährt

para- in die ortho-Stellung geht das alkaliunechte Lichtgrün in das alkaliechte Brillantsäureblau über. Bei alkaliechten Verbindungen wird nun die Anlagerung der Hydroxylgruppe an das Zentralkohlenstoffatom durch die ortho-Substitution räumlich behindert und damit der Übergang in die farblose Carhinolform unmöglich gemacht.

Der Nachweis, daß es sich bei der Lichtgrün-Entfärbung nur um eine Auswirkung der *pH*-Konzentration und nicht um eine Reduktion im Organismus handelt, wird also erhärcht durch die Zusammenfassung der beiden Tatsachen: 1. daß die in den Organen und in der Muskulatur abgelagerte farblose Verbindung durch Essigsäure wieder in die farbige übergeht, und 2. daß das dem Lichtgrün außerordentlich ähnlich konstituierte, gleich reduktionsempfindliche, aber von der *pH*-Konzentration unabhängige Brillantsäureblau im Organismus nicht entfärbt wird. — Die natürliche Rückwandlung der farblosen Verbindung zum Farbstoff in den Harnwegen hinter einer fast ungefärbten Niere ist ebenfalls nicht auf die oxydative Einwirkung, sondern auf die saure Reaktion des Harns zurückzuführen.

Wir haben also am Methylenblau, Lichtgrün und Brillantsäureblau verschiedenes Verhalten bei der Vitalfärbung feststellen können, nämlich Reduktion, Umwandlung in die Carhinolform und Beständigkeit. Es gibt natürlich auch noch eine Reihe weiterer chemischer Umwandlungen, die Entfärbungen hervorrufen können. Hier sei besonders der Oxydation und der hydrolytischen Spaltung gedacht. Die Aufgabe dieser Arbeit sollte nur sein, den mit der Vitalfärbung beschäftigten Mediziner darauf hinzuweisen, welche vielfältige chemische Ursachen bei der Deutung der verschiedenen Erscheinungen in der Vitalfärbung heranzuziehen sind.

produkt ist ein Gemisch von Isomeren des Ergosterins, durch die Bestrahlung wird weder die Zahl der Doppelbindungen noch der Charakter der Hydroxylgruppe beeinflusst. Es ist stark sauerstoffempfindlich und verändert beim Aufbewahren unter Luftabschluß ständig sein Spektrum und sein optisches Drehungsvermögen, ohne daß dadurch die antirachitische Wirksamkeit meßbar beeinflusst wird. Präparate, bei deren Herstellung bis 60 % des eingesetzten Ergosterins durch Bestrahlen umgewandelt sind, zeigen keine Unterschiede hinsichtlich ihrer Wirksamkeit und Giftigkeit, so verschieden auch Absorptionsspektrum und optische Drehung je nach Umwandlungsgrad und verwendeter Lichtquelle sein mögen. Erst bei sehr langer Bestrahlungsdauer wird die Absorption im Bereich von 250 bis 300 $m\mu$ zum Verschwinden gebracht. Diese Überbestrahlungsprodukte sind antirachitisch unwirksam, zeigen aber immer noch eine gewisse Giftwirkung.

* Aus diesen Überbestrahlungsprodukten konnten die ersten definierten photochemischen Umwandlungsprodukte des Ergosterins in reiner kristallisierter Form dargestellt werden. Es sind zwei isomere Alkohole, das negativ drehende Suprasterin I und das positiv drehende Suprasterin II. Diese beiden Isomeren stellen die Endprodukte im Bestrahlungsablauf dar, sie zeigen im Ultraviolett oberhalb 240 $m\mu$ keine Absorption und sind physiologisch unwirksam.

Die ersten erfolgversprechenden Versuche zur Isolierung von kristallisierten und antirachitisch wirksamen Präparaten unternahmen englische Forscher, die Ergosterinbestrahlungsprodukte der fraktionierten Destillation im Hochvakuum unterwarfen. In Deutschland näherte man sich der Lösung dieser Aufgabe auf einem anderen Wege.

Als es sich darum handelte, die Frage zu klären, ob die antirachitische und die toxische Wirkung von Vitamin D-Präparaten von ein und derselben Substanz herrührt, oder ob für die Giftwirkung eine besondere toxische Komponente verantwortlich zu machen ist, fand Windaus, daß mit Natrium und Alkohol

hatte. Es zeigte sich jedoch, daß auch mit den Methoden, die uns die Physik bot, eine Förderung des Vitamin D-Problems kaum zu erwarten war. Zwar gab die Fülle der spektroskopischen Beobachtungen Anlaß zu den mannigfaltigsten Theorien über den Bestrahlungsverlauf und die dabei entstehenden Umwandlungsprodukte, für die Erforschung des Vitamin D blieben die optischen Untersuchungen fast ohne Bedeutung. Das einzige Mittel, etwas Näheres über die Natur der Bestrahlungsprodukte auszusagen, bot die physiologische Prüfung, der Tierversuch. Auch auf rein chemischem Wege wurde versucht, das wandlungsfähige Ergosterin in das Vitamin D überzuführen, aber auch in dieser Richtung verliefen die Arbeiten resultatlos, wenn sie auch in chemischer Hinsicht zu interessanten Ergebnissen führten.

Im Jahre 1928 stellte man fest, daß die Verfütterung sehr großer Dosen von bestrahltem Ergosterin bei den Versuchstieren zu toxischen Erscheinungen führte, die sich durch Gewichtsabnahme und Verkalkung an verschiedenen Organen bemerkbar machten. Durch diesen Befund wurde das Vitamin D-Problem noch komplizierter gestaltet. Während man bis dahin nur darüber verschiedener Meinung sein konnte, ob man bei dieser oder jener Bestrahlungsart zu höchstwirksamen Präparaten gelangte, so kam jetzt als weiterer Streitpunkt hinzu, ob die toxische und die antirachitische Wirksamkeit durch das Vitamin D selbst oder durch das Zusammenwirken einer giftigen und einer antirachitisch wirksamen Komponente bedingt wird. Während die einen Untersucher zeigen konnten, daß es gänzlich belanglos ist, ob man Ergosterin mit langwelligem oder kurzwelligem Licht bestrahlt, und daß bei nicht zu weitgehender Umwandlung des Ergosterins die therapeutische und toxische Wirksamkeit parallel laufen, glaubten wieder andere, daß man beim Bestrahlen mit langwelligem Ultraviolett über 280 m μ zu hochwirksamen, aber völlig ungiftigen Präparaten gelangen könnte.

Nach drei Jahren Studium des Bestrahlungsverlaufs war man zu folgenden Ergebnissen gekommen: Das Bestrahlungs-

produkt ist ein Gemisch von Isomeren des Ergosterins, durch die Bestrahlung wird weder die Zahl der Doppelbindungen noch der Charakter der Hydroxylgruppe beeinflusst. Es ist stark sauerstoffempfindlich und verändert beim Aufbewahren unter Luftabschluß ständig sein Spektrum und sein optisches Drehungsvermögen, ohne daß dadurch die antirachitische Wirksamkeit meßbar beeinflusst wird. Präparate, bei deren Herstellung bis 60 % des eingesetzten Ergosterins durch Bestrahlung umgewandelt sind, zeigen keine Unterschiede hinsichtlich ihrer Wirksamkeit und Giftigkeit, so verschieden auch Absorptionsspektrum und optische Drehung je nach Umwandlungsgrad und verwendeter Lichtquelle sein mögen. Erst bei sehr langer Bestrahlungsdauer wird die Absorption im Bereich von 250 bis 300 $m\mu$ zum Verschwinden gebracht. Diese Überbestrahlungsprodukte sind antirachitisch unwirksam, zeigen aber immer noch eine gewisse Giftwirkung.

■ Aus diesen Überbestrahlungsprodukten konnten die ersten definierten photochemischen Umwandlungsprodukte des Ergosterins in reiner kristallisierter Form dargestellt werden. Es sind zwei isomere Alkohole, das negativ drehende Suprasterin I und das positiv drehende Suprasterin II. Diese beiden Isomeren stellen die Endprodukte im Bestrahlungsablauf dar, sie zeigen im Ultraviolett oberhalb 240 $m\mu$ keine Absorption und sind physiologisch unwirksam.

Die ersten erfolgversprechenden Versuche zur Isolierung von kristallisierten und antirachitisch wirksamen Präparaten unternahmen englische Forscher, die Ergosterinbestrahlungsprodukte der fraktionierten Destillation im Hochvakuum unterwarfen. In Deutschland näherte man sich der Lösung dieser Aufgabe auf einem anderen Wege.

Als es sich darum handelte, die Frage zu klären, ob die antirachitische und die toxische Wirkung von Vitamin D-Präparaten von ein und derselben Substanz herrührt, oder ob für die Giftwirkung eine besondere toxische Komponente verantwortlich zu machen ist, fand *Windaus*, daß mit Natrium und Alkohol

behandelte oder auf 200° erhitzte Bestrahlungsprodukte zwar die antirachitische Wirkung verlieren, ihre Giftigkeit jedoch unverändert beibehalten. Er schloß hieraus, daß das Vitamin, wenn es die toxische und antirachitische Wirkung gleichzeitig ausübt, durch eine Anzahl von Eingriffen so verändert werden kann, daß es seine antirachitische Wirkung einbüßt, ohne die toxische Wirksamkeit zu verlieren. Wenn zwei verschiedene Substanzen die antirachitische und toxische Wirkung ausüben, so sollte der antirachitisch wirksame Stoff gegen Eingriffe viel empfindlicher sein als der toxische. Es mußte also ein Weg gefunden werden, den antirachitischen Faktor vom toxischen zu trennen, ohne seine physiologische Wirkung zu beeinträchtigen.

Als geeignet erwies sich die Anwendung von Maleinsäureanhydrid oder Citraconsäureanhydrid, die sich nach den Arbeiten von *Diels* und *Alder* an konjugierte Doppelbindungen anzulagern vermögen. Werden Bestrahlungsprodukte mit diesen Substanzen behandelt, so reagiert ein um so größerer Anteil mit dem Säureanhydrid, je kurzwelliger das zur Bestrahlung verwendete Licht war. Der nicht in Reaktion getretene Anteil zeigte zwar in seinem physiologischen Verhalten keinen Unterschied gegenüber dem Ausgangsmaterial, es war also keinerlei Abtrennung des toxischen Bestandteils vom antirachitischen eingetreten, wohl aber hatte sich sein Spektrum etwas ins Kurzwellige verschoben und die positive Drehung stark zugenommen. Aus derartig vorge-reinigtem Material gelang es *Windaus*, einen wohldefinierten Stoff, das Vitamin D₁, zu isolieren.

Das reine Vitamin D₁, charakterisiert durch seinen Schmelzpunkt von 124—125° und sein optisches Drehungsvermögen von $(\alpha)_D + 140^\circ$, zeigt in seinem Absorptionsspektrum ein ausgesprochenes Maximum bei 265 m μ . Das Verhältnis von antirachitischer zu toxischer Grenzdosis ist das gleiche wie bei allen nicht-kristallisierenden Präparaten. Durch diesen Befund war der Beweis erbracht, daß die antirachitische und die toxische Wirkung von ein und derselben Substanz ausgehen.

Mittlerweile hatten die englischen Bearbeiter ihre Destillationsmethode soweit ausgearbeitet, daß sie über eine neue, Calciferol genannte Verbindung berichten konnten. Diese neue Substanz war in ihrem chemischen und physiologischen Verhalten dem Vitamin D₁ sehr ähnlich, zeigte jedoch bei gleichem Schmelzpunkt die außerordentlich hohe optische Drehung von $(\alpha)_D + 260^\circ$.

Kurz darauf gelang es im Elberfelder biochemischen Laboratorium unter Ausnutzung der von Windaus gemachten Erfahrungen, aus Bestrahlungsprodukten, die mit dem unfiltrierten Licht des Magnesiumbogens dargestellt waren, eine noch unbekannte, kristallisierte und hochwirksame Substanz, das Vitamin D₂ zu isolieren. Vitamin D₂ war vom Vitamin D₁ und vom Calciferol deutlich verschieden, der Schmelzpunkt lag bei $115\text{--}117^\circ$, die optische Drehung betrug $(\alpha)_D + 81^\circ$, es zeichnete sich durch eine viel höhere Absorption bei $265\text{ m}\mu$ aus und übertraf die beiden anderen Vitamin D-Präparate an physiologischer Wirksamkeit.

Nach diesen Befunden hatte es drei verschiedene Vitamine D geben müssen. Die weitere Bearbeitung dieser Verbindungen ergab, daß die antirachitische Wirksamkeit der drei kristallisierten Vitamin D-Präparate durch ein und dieselbe Substanz, nämlich durch das Vitamin D₂, bedingt war. Zuerst zeigte Windaus, daß man durch Erhitzen des Vitamins D₁ einen dem Calciferol ähnlichen Stoff darstellen kann, dann gelang es den englischen Untersuchern, ihr Calciferol in zwei Komponenten, das physiologisch inaktive Pyro-Calciferol, ein thermisches Umwandlungsprodukt des Vitamins D₂, und in Vitamin D₂, aufzuspalten. Schließlich konnte auch das Vitamin D₁ in zwei Bestandteile zerlegt werden, in ein neues, noch unbekanntes Bestrahlungsprodukt, das physiologisch inaktive, stark rechtsdrehende Lumisterin, und in Vitamin D₂. Damit war bewiesen, daß die antirachitische Wirkung durch eine einzige Substanz bedingt ist, die teils als Einzelindividuum, teils als Anlagerungsverbindung aus

den verschiedenen Bestrahlungsprodukten des Ergosterins isoliert werden kann.

Mit dem Lumisterin waren vier definierte Bestrahlungsprodukte des Ergosterins bekannt geworden, nämlich außer diesem das Vitamin D₂ und die beiden Suprasterine. In dem Bestrahlungsgemisch mußten aber noch andere Verbindungen vorhanden sein, denn während diese Stoffe nur sehr langsam oder überhaupt nicht mit Citraconsäureanhydrid reagieren, verhindert sich ein gewisser Anteil der Bestrahlungsprodukte ziemlich schnell mit dem Säureanhydrid. Aus diesem Additionsprodukt konnte ein weiteres photochemisches Umwandlungsprodukt, das Tachysterin, isoliert werden, dessen Darstellung später auch direkt aus den Rohbestrahlungsprodukten gelang. Tachysterin ist im Gegensatz zum Lumisterin, Vitamin D₂ und zum Snprasterin II linksdrehend und zeigt eine hohe Absorption bei 280 m μ . Es ist antirachitisch unwirksam, wirkt jedoch toxisch und ruft Verkalkungen der Niere hervor. Es ist aber nicht das einzige antirachitisch unwirksame Bestrahlungsprodukt, das solche toxischen Eigenschaften besitzt. Wird Vitamin D₂ weiter bestrahlt, so verschwindet die antirachitische Wirkung unter Bildung einer neuen Verbindung, die auf Grund ihrer besonders großen Giftigkeit den Namen Toxisterin erhielt. Toxisterin ist linksdrehend, zeigt ein Absorptionsmaximum bei 250 m μ und übertrifft in seiner Giftwirkung die bisher bekannten toxisch wirkenden Bestrahlungsprodukte Vitamin D₂ und Tachysterin um das 3—5fache.

Diese sechs verschiedenen photochemischen Umwandlungsprodukte, die sämtlich dem Ergosterin isomere Alkohole darstellen, bilden den Hauptanteil der Bestrahlungsrohprodukte. Es war nun von großem Interesse, zu ermitteln, in welcher Reihenfolge diese Substanzen im Verlauf der photochemischen Umwandlung entstehen. Die Lösung dieser Frage verdanken wir wiederum den Arbeiten von Windaus und seinen Mitarbeitern.

Als erstes Umwandlungsprodukt bildet sich bei der Bestrahlung des Ergosterins das Lumisterin, das beim Weiterbestrahlen

in Tachysterin übergeht. Das Tachysterin wandelt sich in Vitamin D_{nm}, und dieses liefert durch weitere photochemische Umwandlung die beiden Suprasterine und das Toxisterin. Ob das Toxisterin in der genetischen Reihenfolge zwischen dem Vitamin D und den Suprasterinen steht bzw. welches Suprasterin daraus durch Überbestrahlung gebildet wird, ist noch nicht ganz sichergestellt.

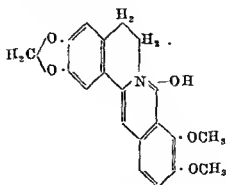
Damit war neben der Isolierung des synthetischen Vitamins D die Aufklärung einer photochemischen Reaktion in allen ihren Zwischenstufen mit den Mitteln der präparativen organischen Chemie geglückt.

Das Berberin und seine Derivate in der Therapie der Orientbeule

DR. BRUNO PÖTZER,

Aus dem Chemischen Forschungslaboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

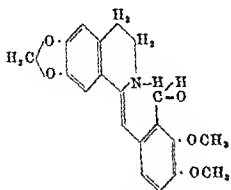
Als Hauptalkaloid von *Hydrastis canadensis* und *Berberis vulgaris*, in deren Wurzelrinden es in der beträchtlichen Menge von 3—4 %, in anderen Pflanzen, z. B. den *Coptis*-Arten, sogar bis zu 9 % enthalten ist, war das Berberin schon frühzeitig der chemischen und physiologischen Erforschung zugänglich. Hinzukam noch seine äußerst leichte Gewinnung aus den Rhizomen durch einfache Extraktion mit absolutem Alkohol und Fällung der eingedunsteten Extrakte mit alkoholischer Salzsäure, wobei das rohe Berberinhydrochlorid als gelbes Kristallpulver zur Ausscheidung gelangt. 1825 von *Brandes* und 1826 von *Chevalier* und *Pelletan* zum erstenmal beschrieben, nahm seine Konstitutionsermittlung immerhin ein volles Jahrhundert in Anspruch. Sie wurde erst 1925 mit der Synthese durch *Perkins*, *Räy* und *Robinson* sowie durch *Späth* und *Quietensky* abgeschlossen. Aus Abbau und Synthese ergab sich für das Berberin folgende Strukturformel:



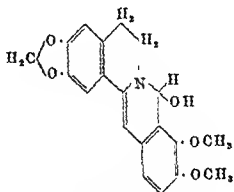
Berberin (Ammoniumform)

Von dieser Form leiten sich die meisten seiner Salze durch Wasseraustritt mit den entsprechenden Säuren ab. Sie sind im Gegensatz zur Base selbst äußerst beständig.

Das Berberin kann aber auch ähnlich dem Hydrastin und Kotarnin in zwei weiteren tautomeren Formen reagieren, dem Berberinal (Aminoaldehydform) und als Pseudobase (Carbinolform).



Berberinal (Aminoaldehydform)



Pseudobase (Carbinolform)

Berberinal bildet sich aus Berberinsalzlösungen mit überschüssigem Alkali. Es läßt sich dann in Äther aufnehmen und daraus zur Kristallisation bringen. Seine Eigenschaften sind die eines Aldehyds, was sich durch Oximbildung und Kondensation mit *p*-Dimethylaminoanilin zu einer *Schiffschen* Base nachweisen ließ. Von der Pseudoform leiten sieb auf Grund ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften, insbesondere der Lage ihrer Absorptionsspektren, die Salze schwacher Säuren, wie z. B. das Cyanid, ab. Diese Form läßt auch eine Erklärung des eigenartigen Verhaltens des Berberinals und der Berberinsalze bei der Grignardierung zu. Es entstehen dabei Alkyldihydroberberine, bei denen man sich an Stelle der OH-Gruppe in der oben angegebenen Pseudobasenform Alkylreste denken muß. Die Alkyldihydroberberine besitzen dann in *p*-Stellung des gleichen Ringes noch ein reaktionsfähiges Wasserstoffatom, das beispielsweise der Kupplung mit Diazoniumverbindungen zu Azofarbstoffen zugänglich ist, worauf weiter unten noch eingegangen werden soll.

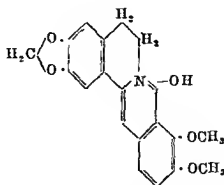
Pharmakologisch ist das Berberin eingehend untersucht worden. Da es sich als wenig giftig erwies und auf den menschlichen Organismus in mannigfacher Weise günstig einzuwirken

Das Berberin und seine Derivate in der Therapie der Orientbeule

DR. BRUNO PÜTZER,

Aus dem Chemischen Forschungslaboratorium der I. G. Farbenindustrie AG,
Werk Elberfeld

Als Hauptalkaloid von *Hydrastis canadensis* und *Berberis vulgaris*, in deren Wurzelrinden es in der beträchtlichen Menge von 3—4 %, in anderen Pflanzen, z. B. den *Coptis*-Arten, sogar bis zu 9 % enthalten ist, war das Berberin schon frühzeitig der chemischen und physiologischen Erforschung zugänglich. Hinzu kam noch seine äußerst leichte Gewinnung aus den Rhizomen durch einfache Extraktion mit absolutem Alkohol und Fällung der eingeeengten Extrakte mit alkoholischer Salzsäure, wobei das rohe Berberinhydrochlorid als gelbes Kristallpulver zur Ausscheidung gelangt. 1825 von *Brandes* und 1826 von *Chevalier* und *Pelletan* zum erstenmal beschrieben, nahm seine Konstitutionsermittlung immerhin ein volles Jahrhundert in Anspruch. Sie wurde erst 1925 mit der Synthese durch *Perkins, Ráy* und *Robinson* sowie durch *Späth* und *Quietensky* abgeschlossen. Aus Abbau und Synthese ergab sich für das Berberin folgende Strukturformel:



Berberin (Ammoniumform)

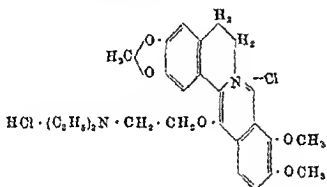
Von dieser Form leiten sich die meisten seiner Salze durch Wasseraustritt mit den entsprechenden Säuren ab. Sie sind im Gegensatz zur Base selbst äußerst beständig.

Es war nun von Interesse, zu erfahren, ob sich unter den Derivaten des Berberins, seinen Substitutions- oder Umwandlungsprodukten nicht Stoffe mit ähnlich ausgesprochener Leishmaniosewirkung finden würden. Man konnte vermuten, dabei durch Abänderung chemischer oder physikalischer Eigenschaften des Berberins, z. B. der Oxydationsstufe, der Basizität und dadurch der Löslichkeit, oder durch Einführung neuer Substituenten, der Kombination mit anderen Alkaloiden usw., unter Umständen zu Produkten zu gelangen, die dem Berberin gegenüber irgendwelche Vorzüge aufweisen, es in seiner Wirkung womöglich noch übertreffen würden. Zur orientierenden Bearbeitung, nicht Erschöpfung aller Möglichkeiten dieses Gebiets wurde von mir eine Reihe teils aus der Literatur bekannter, teils neuer Berberinabkömmlinge hergestellt, die im hiesigen ebemotherapeutischen Laboratorium durch Herrn Dr. Kikutš sowohl an der Orientbeule des Hundes als auch an anderen Infektionserkrankungen geprüft wurden. Dabei zeigte sich als erstes, daß sich schon bei der Prüfung der bekannten Salze des Berberins Unterschiede ergaben. Augenseheinlich spielt die Löslichkeit der Berberinsalze schon eine entscheidende Rolle. Während das in seiner Wasserlöslichkeit zwischen dem Sulfat und dem Nitrat stehende Hydrochlorid noch eine gute Heilwirkung bei der Hautleishmaniose des Hundes hatte, war eine solche bei dem schwer löslichen Nitrat, das mittels eines Lösungsvermittlers zur Anwendung gebracht wurde, nicht mehr vorhanden. Auch die Konfiguration, in der das Berberin vorliegt, scheint maßgebend zu sein. Berberinal und sein leichtlösliches essigsäures Salz hatten keine Wirkung. Da man schlechtweg nicht annehmen kann, daß der Säurerest als solcher für das Zustandekommen der Heilwirkung verantwortlich zu machen ist, müssen Löslichkeit und ehemische Konfiguration, d. h. Vorliegen von Ammonium-, Aldehyd- oder Carbinolform, bei der Wirkung des Berberins von ausseblaggebender Bedeutung sein. Auf Grund dieser Differenzen, schon bei geringfügiger Änderung am Berberinmolekül selbst, waren die Aussichten, durch

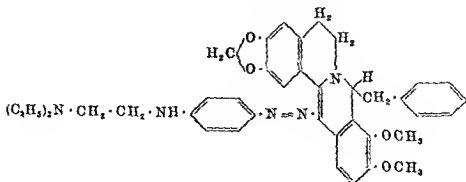
vermag, hat man schon frühzeitig versucht, es dem Arzneimittelschatz einzuverleiben. Sowohl in Form der Droge, als Drogenextrakt und auch als kristallisierte Verbindung findet es ausgedehnte therapeutische Verwendung, so beispielsweise als Stomachikum und Tonikum, ferner bei Dysmenorrhöe und Wehenschwäche, ähnlich den Hydrastisalkaloiden. Auch bei Diarrhöe, Wechselstieber und sogar bei der Malaria in Kombination mit Chinin wurde es verwandt. *Sabastine* (1926) benutzte Berberin als Provakationsmittel zur Diagnose latenter Malaria. Aber erst in neuester Zeit hat man für das Berberin ein ganz spezielles Indikationsgebiet, die Hautleishmaniose, gefunden. Basierend auf Versuchen von *Jolly* (1911), der mit Berberisextrakten eine Beeinflussung der Orientbeule (*Leishmania tropica*) zu beobachten glaubte, gelang es *Varma* (1927) nach ursprünglich vergeblichen Reproduktionsversuchen der Methode *Jollys*, durch Einspritzen einer wässrigen Berberinsulfatlösung in die Beulen eines Patienten nach zweimaliger Behandlung eine vollständige Heilung zu erzielen. Dieses Resultat konnte von ihm selbst, *Karamchandani* (1927), *Das Gupta* (1929 und 1930) und anderen Forschern an zahlreichen Fällen bestätigt werden. Es zeigte sich, daß das Berberin auf das normale Bakterienwachstum wenig oder gar keinen Einfluß besitzt, dagegen eine spezifische Einwirkung auf *Leishmania tropica*, dem Erreger der Orientbeule, hat, was von *Das Gupta* sowohl an Patienten als auch an experimentell an Mäusen hervorgerufenen Beulen festgestellt werden konnte. In vitro verhindert saures Berberinsulfat das Wachstum von *Leishmania tropica* schon in einer Verdünnung von 1:80 000. Zur Behandlung der Orientbeule genügt die ein- bis viermalige Einspritzung in wöchentlichen Abständen von etwa 1 ccm einer 1—2 %igen sauren Berberinsulfatlösung in die Beulen und deren nächste Umgebung. Die Geschwülste verschwinden nach kurzer Zeit restlos und auch mikroskopisch lassen sich keine Erreger mehr feststellen. Die Bedeutung des Berberins als Leishmaniosemittel ist damit unbestritten.

leicht lösliche Verbindung, die sowohl als Base (Aldehydform) als auch als Dihydrochlorid vorstehender Konstitution isoliert wurde.

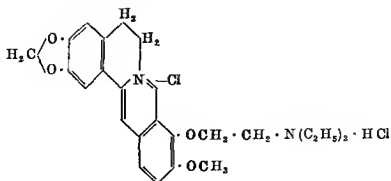
Sie zeigte eine gewisse, jedoch nicht ausreichende Wirkung bei der Orientbeule. Das gleiche Resultat erhielt ich durch Anlagerung von Diäthylaminoäthylchlorid an das Neo-Oxyberberin von *Pyman*. Diese Verbindung besitzt in Form ihres Dihydrochlorids die nachfolgende Konstitution und hat ebenfalls nur eine schwache Leishmaniosewirkung.



In beiden Verbindungen besitzt das Berberingerüst die Ammoniumform. Es wurde ferner versucht, die von *Freund* und *Fleischer* aufgefundene Kupplungsfähigkeit der Alkyldihydroberberine zur Einführung basischer Reste nutzbar zu machen. Und zwar kuppelte ich diazotiertes p-Diäthylaminoäthylaminoanilin auf 1-Benzylidihydroberberin zu folgendem Farbstoff, der sich in Form seiner Salze als in Wasser leicht löslich erwies, bei der Orientbeule aber gänzlich wirkungslos war.

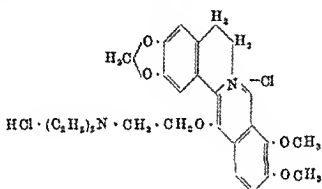


Substitution und weitgehende Veränderung zu wirksamen Produkten zu gelangen, gering, was sich auch im Verlauf der weiteren Untersuchung bestätigte. Von bekannten Berberinderivaten, die zum Teil schwächeren basischen Charakter als das Berberin besitzen, größtenteils aber auch schwerer löslich sind, wurden untersucht das Berberuhin, entstanden durch Abspaltung von Chlor-methyl aus Berberinhydrochlorid, wobei eine der beiden Methoxygruppen entmethyliert und die gebildete freie Phenolgruppe betainartig mit dem quaternären Stickstoffmolekül verknüpft wird, Tetrahydroberberin, Methyl-dihydroberberin, Benzyl-dihydroberberin, Benzolazo-4-(1-benzyl-dihydroberberin), p-Benzolsulfosäureazo-4-(1-benzyl-dihydroberberin) und 4-Methyl-1-benzyl-dihydroberberin. Keiner der genannten Verbindungen hatte Leishmaniosewirkung. Beim Berberuhin war eine gewisse Amöbenwirkung festzustellen. — Um dem Berberin einen stärkeren basischen Charakter zu verleihen, wurde zunächst versucht, in das Molekül direkt basische Reste einzuführen. Die Einwirkung von Diäthylaminoäthylchlorid auf Berberinal führte nicht zum Ziel. Es bildete sich lediglich Berberinhydrochlorid. Das Berberuhin, das in Form eines Phenolbetains der quaternären Oxybase vorliegt und bei dem analog seiner Rückwandlung zum Berberin bei der Behandlung mit Methylhalogeniden, bei der Umsetzung mit Diäthylaminoäthylchlorid ein an dem phenolischen Sauerstoffatom basisch alkyliertes Berberin zu erwarten war, ließ sich auf diese Weise auch zum Umsatz bringen. Es entstand eine gut kristallisierende, in Form ihrer Salze in Wasser

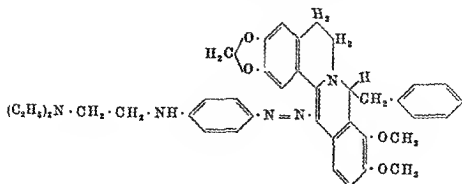


leicht lösliche Verbindung, die sowohl als Base (Aldehydform) als auch als Dihydrochlorid vorstehender Konstitution isoliert wurde.

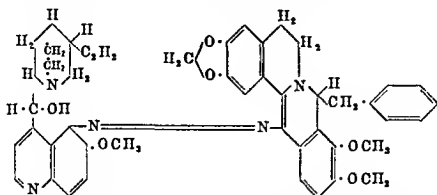
Sie zeigte eine gewisse, jedoch nicht ausreichende Wirkung bei der Orientbeule. Das gleiche Resultat erhielt ich durch Anlagerung von Diäthylaminoäthylechlorid an das Neo-Oxyherberin von *Pyman*. Diese Verbindung besitzt in Form ihres Dihydrochlorids die nachfolgende Konstitution und hat ebenfalls nur eine schwache Leishmaniosewirkung.



In beiden Verbindungen besitzt das Berberingerüst die Ammoniumform. Es wurde ferner versucht, die von *Freund* und *Fleischer* aufgefundenene Kupplungsfähigkeit der Alkyldihydroberberine zur Einführung basischer Reste nutzbar zu machen. Und zwar kuppelte ich diazotiertes p-Diäthylaminoäthylaminoanilin auf 1-Benzylidihydroherberin zu folgendem Farbstoff, der sich in Form seiner Salze als in Wasser leicht löslich erwies, bei der Orientbeule aber gänzlich wirkungslos war.



Aus diazotiertem 5-Aminohydrochinin und 1-Benzyl-dihydroberberin entstand ein über die Azogruppe verknüpft System aus einem Chinin- und einem Berberinderivat folgender Konstitution:



Die Verbindung besaß eine verhältnismäßig geringe Giftigkeit und hatte bei Hautleishmaniose keine Wirkung. Aber auch bei der Vogel malaria war sie wirkungslos. Versuche, durch Reduktionen von Azofarbstoffen des Benzyl-dihydroberberins ein 4-Aminobenzyl-dihydroberberin zu erhalten, verliefen in Bestätigung der Angaben von *Freund* und *Fleischer* ergebnislos. Erwähnt sei noch die Herstellung einer Nitrosoverbindung des Benzyl-dihydroberberins, die ähnlich den oben erwähnten Farbstoffen bei der Reduktion kein Aminobenzyl-dihydroberberin, sondern wieder Benzyl-dihydroberberin selbst zurücklieferte. Bei einem Reduktionsversuch des p-Benzolsulfosäure-azo-4-(1-benzyl-dihydroberberins) resultierte in allerdings mäßiger Ausbeute eine Substanz, der man ihrer Eigenschaft und Analyse nach die Konstitution eines 4-Oxy-1-benzyl-dihydroberberins zuschreiben muß und die ebenfalls bei Hautleishmaniose als unwirksam befunden wurde.

Zusammenfassend kann bemerkt werden, daß bei der Prüfung einer Reihe von Berberinderivaten auf ihre Wirkung bei der Hautleishmaniose nur solche eine Andeutung von Wirksamkeit zeigten, bei denen der Berberinkern in seiner Ammoniumform vorliegt und die mit Säuren in Wasser leicht lösliche Salze bilden. Dies trifft für das Berberin selbst als auch, wie gezeigt wurde, für seine Substitutionsprodukte, insbesondere solche basischer Natur, zu.

Über Chaulmoograsäuren und ihre Derivate

DR. LUDWIG TAUB

Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG,
Werk Elbertfeld

Unter den Pflanzen, die sich durch einen Gehalt an nicht-trocknenden Ölen auszeichnen, nimmt die verhältnismäßig kleine Familie der Flacourtiaceen insofern eine Sonderstellung ein, als sie die einzige Pflanzengruppe darstellt, in der sich beträchtliche Mengen einfach-ungesättigter zyklischer Fettsäuren vorfinden. Diese Verbindungen, die der Reihe der Cyclopentonylfettsäuren angehören, sind optisch aktiv und zeigen eine starke physiologische Wirkung. Aus empirischen Beobachtungen war die Heilkraft der genuinen Öle gegen Hautkrankheiten, namentlich gegen Lepra, von alters her bekannt, und auch heute noch gebührt auf Grund exakter klinischer Studien dem Chaulmoograöl und den daraus hergestellten Zubereitungen der erste Platz in der Leprabehandlung; minder eindeutig sind die mit der Chaulmoogratherapie erzielten Erfolge bei Trachom und Tuberkulose.

Die chemische Bearbeitung des Chaulmoograöls setzte erst vor etwa 30 Jahren mit der Isolierung der wesentlichen Bestandteile und ihrer Konstitutionsermittlung ein, fand in der Synthese des wichtigsten Gliedes dieser Reihe, der Chaulmoograsäure, ihre Krönung und führte darüber hinaus, namentlich in den Laboratorien amerikanischer Forscher, zum Aufbau neuer Verbindungen mit ähnlichen chemischen und therapeutischen Eigenschaften.

Als Hauptspender der stark optisch-aktiven Öle kommen die Samen von *Taraktogenos Kurzii* (Indien) in Betracht, die das eigentliche Chaulmoograöl liefern, während *Hydnocarpus Wightiana* (Malabarküste) der Gewinnung von *Hydnocarpusöl* dient und *Oncoba echinata* (Äquatorialafrika) die Quelle für Gorliöl bildet. Das Arzneibuch der Vereinigten Staaten von Amerika gestattet

die Verwendung von Ölen aller Hydnocarpusarten, sofern diese in ihren Konstanten mit dem aus Thraurkogenos Kurzii herrührenden Öl übereinstimmen. Das Öl von Gynocardia odorata, mit dem das Chaulmoograöl früher häufig verwechselt wurde, enthält keine zyklischen Fettsäuren, ist optisch-inaktiv, wie fast alle anderen fetten Öle, und therapeutisch wertlos.

Die Gewinnung der Öle erfolgt durch Auspressen der geschälten, getrockneten und zerriebenen Samen. Das auf diesem Wege gewonnene Öl stellt nach dem amerikanischen Arzneibuch eine bräunlichgelbe Flüssigkeit dar, die bei etwa 25° erstarrt, eigentümlich riecht und schmeckt. Spezifisches Gewicht 0,950 bei 25°, spezifische Drehung + 48—60°, Jodzahl 98—104. Das Öl hat auch Eingang in die Series medicaminum einer großen Zahl von Arzneibüchern anderer Nationen gefunden, wie England, Schweden, Niederlande, Japan u. n.

Aus den Ölen lassen sich die optisch-aktiven Fettsäuren durch Verseifung und darauffolgende fraktionierte Destillation und Kristallisation rein erhalten. Als erstem gelang es Moss (1879), derartige ungesättigte Fettsäuren in unreiner Form zu isolieren. Die Reindarstellung zweier Säuren von der Bruttoformel $C_{16}H_{28}O_2$ und $C_{18}H_{32}O_2$ erfolgte jedoch erst durch Power und seine Mitarbeiter (1904). Beide Säuren, von den Autoren Hydnocarpus- und Chaulmoogra-säure benannt, sind im Chaulmoograöl zu etwa 5 und 10 % enthalten; eine viel ergiebigere Quelle für die Gewinnung reiner von Hydnocarpus-säure freier Chaulmoogra-säure stellt das Öl von Hydnocarpus alcalae (Philippinen) dar und, nach André und Jouatte, das Gorliöl, das bis zu 87,5 % davon enthalten soll, aber merkwürdigerweise eine schwächere therapeutische Wirkung zeigt.

Power beschreibt die Chaulmoogra-säure als eine in glänzenden Blättchen kristallisierende Substanz vom F. 68,5° (α_D) = +62,1°, die stabil ist, sich unzersetzt bei 20 mm 247—248° destillieren läßt und erst durch Einwirkung von Oxydantien, wie Permanganat oder Salpetersäure, angegriffen wird. Diese Kennzeichnung

bedarf aber nach unseren Beobachtungen einer Ergänzung dahin, daß die reine Chaulmoograsäure auch bei sorgfältigster Aufbewahrung nicht unbegrenzt haltbar ist, sondern sich schon nach kurzer Lagerung (2—3 Monaten) durch Luftzutritt zu zersetzen beginnt, wobei sie unter Abspaltung von Ameisensäure vergilbt und schwerer löslich wird. In Form ihres Äthylesters ist sie jedoch unbegrenzt haltbar und kann hieraus durch Verseifung leicht in reinster Form zurückerhalten werden.

Die Hydnocarpussäure kristallisiert in farblosen Blättchen vom F. 60°, $(\alpha)_D = +68,1^\circ$, und zeigt in Aussehen und Verhalten weitgehende Ähnlichkeit mit der Chaulmoograsäure, deren um zwei C-Atome niedrigeres Homologes sie darstellt. Am besten und reinsten wird sie aus dem Öl von *Hydnocarpus Wightiana* über die Methylester gewonnen, die aus fast reinem Hydnocarpussäureester bestehen, während die entsprechenden Chaulmoograsäureester meist Beimengungen von Palmitinsäureester enthalten. Hydnocarpussäure ist an der Luft ebenfalls nur begrenzte Zeit haltbar. Wahrscheinlich liegen in den öligen Anteilen der abgeschiedenen Fettsäuren der zuvor genannten Öle noch niedrigere Homologe der gleichen Reihe vor, ihre Trennung ist jedoch bisher noch nicht geglückt.

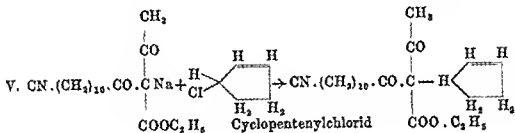
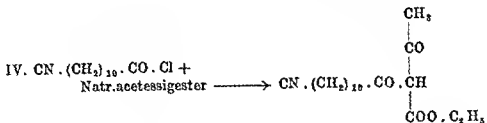
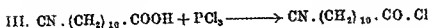
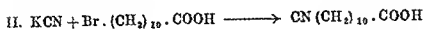
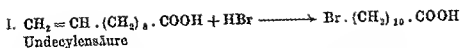
Die Bruttoformeln der Hydnocarpus- und Chaulmoograsäure entsprechen ihrer Zusammensetzung nach dem Typ der Leinölsäure $C_n H_{2n-4} O_2$, die bekanntlich zwei Doppelbindungen aufweist und demgemäß vier Atome Halogen addiert. Chaulmoogra- und Hydnocarpussäure nehmen jedoch nur zwei Atome Brom auf, enthalten also nur eine Doppelbindung. Dieser Befund sowie die aus der magnetischen Molekularrotation errechneten Werte, die auf das Vorhandensein eines Ringes im Molekül schließen ließen, führten *Power* und seine Mitarbeiter zur Aufstellung von Konstitutionsformeln für beide Säuren, deren Richtigkeit von ihnen und anderen Forschern sowohl durch Abbau als auch durch Synthese bewiesen werden konnte. Danach stellt die Hydnocarpussäure

die Verwendung von Ölen aller *Hydnocarpus*-Arten, sofern diese in ihren Konstanten mit dem aus *Taraktogenos Kurzii* herrührenden Öl übereinstimmen. Das Öl von *Gynoeardia odorata*, mit dem das Chaulmoograöl früher häufig verwechselt wurde, enthält keine zyklischen Fettsäuren, ist optisch-inaktiv, wie fast alle anderen fetten Öle, und therapeutisch wertlos.

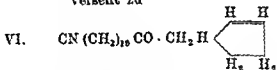
Die Gewinnung der Öle erfolgt durch Auspressen der geschälten, getrockneten und zerriebenen Samen. Das auf diesem Wege gewonnene Öl stellt nach dem amerikanischen Arzneibuch eine bräunlichgelbe Flüssigkeit dar, die bei etwa 25° erstarrt, eigentümlich riecht und schmeckt. Spezifisches Gewicht 0,950 bei 25°, spezifische Drehung + 48—60°, Jodzahl 98—104. Das Öl hat auch Eingang in die *Series medicaminum* einer großen Zahl von Arzneibüchern anderer Nationen gefunden, wie England, Schweden, Niederlande, Japan u. a.

Aus den Ölen lassen sich die optisch-aktiven Fettsäuren durch Verseifung und darauffolgende fraktionierte Destillation und Kristallisation rein erhalten. Als erstem gelang es Moss (1879), derartige ungesättigte Fettsäuren in unreiner Form zu isolieren. Die Reindarstellung zweier Säuren von der Bruttoformel $C_{15}H_{28}O_2$ und $C_{18}H_{32}O_2$ erfolgte jedoch erst durch Power und seine Mitarbeiter (1904). Beide Säuren, von den Autoren *Hydnocarpus*- und *Chaulmoogra*säure benannt, sind im Chaulmoograöl zu etwa 5 und 10 % enthalten; eine viel ergiebigere Quelle für die Gewinnung reiner von *Hydnocarpus*säure freier *Chaulmoogra*säure stellt das Öl von *Hydnocarpus alcalae* (Philippinen) dar und, nach André und Jouatte, das Gorliöl, das bis zu 87,5 % davon enthalten soll, aber merkwürdigerweise eine schwächere therapeutische Wirkung zeigt.

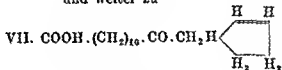
Power beschreibt die *Chaulmoogra*säure als eine in glänzenden Blättchen kristallisierende Substanz vom F. 68,5° (α)_D = +62,1°, die stabil ist, sich unzersetzt bei 20 mm 247—248° destillieren läßt und erst durch Einwirkung von Oxydantien, wie Permanganat oder Salpetersäure, angegriffen wird. Diese Kennzeichnung



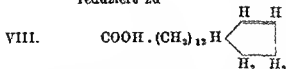
verseift zu



und weiter zu



reduziert zu

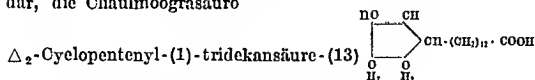


d,l-Chaulmoograsäure optisch-inaktiv

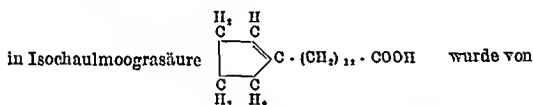
Wesentlich einfacher gestaltete sich die von *Stanley* und *Adams* ausgeführte Teilsynthese der Chaulmoograsäure aus Hydnocarpussäure im Gange einer Malonestersynthese nach dem Schema: Hydnocarpussäureester mit Natrium und Alkohol reduziert zu Hydnocarpylalkohol, \longrightarrow Hydnocarpylchromid \longrightarrow Hydnocarpylmalonsäure \longrightarrow Hydnocarpylessigsäure, d. i. Chaulmoograsäure, die sich auch als optisch-aktiv erwies. Eine Racemisierung der



dar, die Chaulmoograsäure



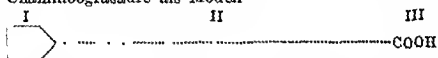
Die anfängliche Annahme, daß beide Säuren tautomer reagieren, erwies sich als irrig, da sie im Widerspruch mit deren optischer Aktivität steht, die weder durch wiederholte Destillation noch durch mehrtägiges Erhitzen mit Ätzkali auf 250 bis 300° aufgehoben wird. Eine Umwandlung der Chaulmoograsäure



Shriner und Adams bei der Abspaltung von Bromwasserstoff aus Bromdihydrochaulmoograsäureester festgestellt. Durch Hydrierung gehen beide Säuren in die optisch-inaktiven Dihydrosäuren über, deren völlige Übereinstimmung mit den später auf synthetischem Wege von Nollers und Adams erhaltenen Verbindungen nachgewiesen werden konnte. Dieser Weg, der durch Einwirkung von Cyclopentylmethylmagnesiumbromid bzw. Cyclopentylpropylmagnesiumbromid auf Sebacialaldehydsäure und Reduktion der so erhaltenen Oxyssäuren zu der Dihydrohydrocarpus- bzw. Chaulmoograsäure führt, bildete die Vorstufe zu der geistvollen Totalsynthese der Chaulmoograsäure, die wir Perkins und Cruz (1927) verdanken. Ausgehend von der als Spaltstück des Rizinusöls durch trockene Destillation erhältlichen, verhältnismäßig leicht zugänglichen Undecylensäure, wandelten sie diese über die nachstehend skizzierten Phasen in die, allerdings optisch-inaktive d,l-Chaulmoograsäure um, die mit der aus Ölgewonnenen Säure in allen übrigen Konstanten übereinstimmte:

wie sie in großer Vollständigkeit die ausgezeichnete Monographie der Flacourtiaceenöle von *Fischl* und *Schlossberger*, Handbuch der Chemotherapie, Bd. 1, aufführt. An bakterizider Wirkung soll die Hydnoecarpussäure der Chaulmoograsäure überlegen sein, was möglicherweise auf der leichteren Wasserlöslichkeit ihrer Salze beruht. In vitro töten die Natriumsalze der Gesamtfettsäuren säurefeste Bakterien noch in Verdünnungen von 1:200 000 ab und sind hierin den Natriumsalzen der reinen Säuren überlegen.

Die Bemühungen, auf synthetischem Wege durch Abwandlung des Moleküls der Chaulmoogra- und Hydnoecarpussäure zu Verbindungen mit ähnlicher, womöglich gesteigerter Wirksamkeit zu gelangen und so Einsicht in die Zusammenhänge zwischen Konstitution und Wirkung derartiger Substanzen zu erhalten, erstrecken sich nach dreierlei Richtungen. Unter Zugrundelegung der Chaulmoograsäure als Modell



haben *Roger Adams* und seine Mitarbeiter in einer großen Reihe von Experimentalstudien versucht, 1. den Fünfring (I) durch andere Ringsysteme zu substituieren, 2. die Seitenkette (II) zu verkürzen oder zu verlängern, und 3. die Stellung der Carboxylgruppe (III) zu variieren.

Die ursprüngliche Annahme, daß die einwandfrei festgestellte therapeutische Wirkung der Chaulmoograsäure auf Leprabazillen auf dem Vorhandensein der Äthylidenbindung im Fünfring beruhe, verliert an Wahrscheinlichkeit, seitdem man weiß, daß auch die hydrierten also optisch-inaktiven Säuren, wenn auch in geringerem Grade, gleiche Wirkung zeigen. Dasselbe gilt auch für die Oxyderivate dieser Säuren. Aber auch der Fünfring an sich scheint nicht der Träger der antibakteriellen Eigenschaften zu sein, da solche Wirkungen schwächeren und stärkeren Grades auch an Säuren mit einem Cyclopropyl-, Cyclobutyl- und Cyclohexylring, desgleichen auch bei phenylsubstituierten Säuren festgestellt werden konnten. Cyclohexenyl- sowie Cyclohexylfett-

d-Chaulmoogra- und Hydnocarpussäure beschreibt neuerdings *Hinegardner* durch Destillation ihrer Amido mit Phosphorperoxyd und Verseifung der so erhältlichen d,l-Nitrile zu den freien Säuren. Der Aufbau der Hydnocarpussäure ist bisher noch nicht ausgeführt worden, hingegen sind die Zwischenglieder mit 11 und 13 CH_2 -Gruppen auf synthetischem Wege erhalten worden, ohne daß auf diese Weise eine Steigerung der Wirksamkeit gegen Lepra erzielt worden wäre.

Praktische Bedeutung kommt diesen Syntesen einstweilen nicht zu, vielmehr steht für die Behandlung der zumeist den allerärmsten Schichten angehörigen Leprakranken die Chaulmoograölmedikation als billigstes, zum Teil von den Regierungen unentgeltlich dargebotenes Heilverfahren im Vordergrund. Aus Versuchen, die der Anwendung des natürlichen Öls anhaftenden Mängel, schlechte Verträglichkeit bei innerer Darreichung, starke Reizung bei Injektionen, zu beseitigen, ist 1907 auf Anregung von *Engel-Bey*, Kairo, in den Laboratorien der F. F. vorm. Friedr. Bayer, Elberfeld, das Antileprol hervorgegangen. Es stellt das Äthylestergemenge der gesamten Chaulmoograöle enthaltenen Fettsäuren dar und bildet ein nahezu farbloses, neutrales, schwach riechendes und schmeckendes Öl, das als Aethylis Chaulmoogras inzwischen Eingang in das amerikanische Arzneibuch u. a. gefunden hat. Das Äthylestergemenge zeigt die gewebsschädigenden Eigenschaften in geringerem Grade als die Methyl- und Amylester und ist in dieser Hinsicht auch den Natriumsalzen der Chaulmoogra- und Hydnocarpussäure überlegen. Eine beträchtliche Verbesserung sowohl in geschmacklicher Hinsicht als auch in der Verträglichkeit bedeutete die Einführung des Antileprol-By, das aus dem Benzylestergemenge der Gesamtfettsäuren von Chaulmoogra- und Hydnocarpusöl besteht. Daneben sind außer den Seifen und Salzen obiger Säuren auch zahlreiche andere Derivate sowie Kombinationen der Öle und Ester mit Zusätzen von Kampfer, Phenolen, Jod, Anaestheticis u. a. mit mehr oder minder gutem Erfolg zur Anwendung gelangt,

Zur Frage der Identität des *Bac. gigas* (Zeissler) und des Erregers einer im Anden-Gebiet Nord- und Südamerikas vorkommenden Hämoglobinurie der Rinder

DR. ALBERT DEMNITZ

Aus der Sero-bakteriologischen Abteilung „Bayer-Meister Lucius-Behringwerke“,
Marburg

In hestimmten Kordillerenabschnitten Nord- und Südamerikas wird bei Rindern vorzugsweise bei Weidehaltung eine sporadisch auftretende Krankheit beobachtet, deren eindringlichstes klinisches Symptom Hämoglobinurie ist. Die Sektion hietet — abgesehen von den typischen Besonderheiten vor allem des Blaseninhalts — im großen und ganzen ein Bild, das uns in Deutschland von der Bradsot der Schafe her wohl bekannt ist. Es hatte daher einen besondern Reiz, festzustellen, ob auch in anderer Hinsicht ein gewisser Parallelismus zwischen den Krankheiten der heiden verschiedenen Tierarten in geographisch so weit auseinanderliegenden Ländern hesteht. Außer den klinischen Merkmalen heider Krankheiten, der pathologischen Anatomie und Histologie, den epidemiologischen Feststellungen und der Pathogenese hat die Frage nach der Ätiologie eine besondere Bedeutung, weil von ihrer Beantwortung ein wesentlicher Teil der Bekämpfungsmaßnahmen abhängt.

In den nachfolgenden Ausführungen soll überwiegend die Frage nach der Ätiologie behandelt werden unter Berücksichtigung der seit Jahren durchgeführten eigenen Untersuchungen und der in der in- und ausländischen Literatur niedergelegten Erkenntnisse. Besonders erwähnt seien die Arbeiten von Zeissler, Miessner und seinen Mitarbeitern, Hall, Vawter und Records, Sordelli und seinen Mitarbeitern, Sans und Skiba. Unser Untersuchungsmaterial setzt sich zusammen aus Stämmen, die wir aus den typischen Leherherden von chilenischen Rindern

säuren mit längeren Ketten wirken ähnlich, zum Teil sogar noch stärker als die entsprechenden Fünfringsäuren von etwa gleicher Molekulargröße. Von entschiedenem Einfluß ist neben dem Vorhandensein eines zyklischen Rndiknls die Länge der Seitenkette (II), während der Stellung der Carboxylgruppe innerhalb dieser Kette keine wesentliche Bedeutung zukommt. Mit zunehmender Länge der Kette steigt die Wirkung rasch an, erreicht ein Maximum bei 9 C-Atomen und klingt dann rasch ab, nm bei 13 Atomen nahezu zu verschwinden. Bei Verbindungen mit verzweigter Kette, wie sie in den von Adams und seinen Mitarbeitern durch Malonestersynthese aufgebauten disubstituierten Essigsäuren vorliegen, erreicht die Wirkung einen Höchstgrad, wenn beide Substituenten annähernd die gleiche Zahl von C-Atomen enthalten. Eine Verkürzung der Kette verringert die Wirkung, die z. B. der Δ_2 -Cyclopentenylessigsäure vollkommen fehlt. Soll sich die Wirkung der Cyclosäuren einem Maximum nähern, so müssen etwa 16 bis 18 C-Atome im Molekül vorhanden sein. Auch der Ersatz der Carboxylgruppe durch die Aminogruppe führt zu wirksamen Produkten, deren Ansmittlung bisher allerdings nur in vitro und im Tierversuch erfolgt ist, während Berichte über die Beeinflussung der menschlichen Lepra noch nicht vorliegen.

Auf europäischem Boden standen Arbeiten in der angezeigten Richtung bisher beträchtliche Schwierigkeiten entgegen, da man nicht über geeignetes Versuchsmaterial verfügte und auch die Auswahl der Leprakranken nicht sehr groß ist, an denen die Mittel erprobt werden können. Inwieweit die Rattenlepra als Testmodell bei der Prüfung neuer Verbindungen in vivo verwendbar ist, läßt sich noch nicht mit Sicherheit sagen, und ebenso wenig ist einstweilen eine einwandfreie Übertragung der menschlichen Lepra auf Versuchstiere möglich gewesen. Dem Zusammenwirken von Chemikern und Chemotherapeuten dürfte es aber in absehbarer Zeit gelingen, die Naturstoffe mit ihrem schwankenden Gehalt an wirksamer Substanz durch neue synthetische Heilmittel von zuverlässigerer Wirkung zu ersetzen.

herausgezüchtet haben, die wenige Stunden nach dem Auftreten der ersten Krankheitssymptome im Schlachthof von Santiago do Chile geschlachtet wurden. Die Leberherde wurden sofort in dünne Streifen zerlegt, getrocknet und später in Marburg bakteriologisch verarbeitet. Die gewonnenen Stämme waren in jedem Falle Reinkulturen. Weiteres Material verdanken wir der Liebenswürdigkeit von *Zeissler*, *Miessner* und *Sordelli*. Dieses umfaßt die süd- und nordamerikanischen Rinderhämoglobinurie- und deutschen Bradsotstämme von Schafen. Gearbeitet wurde nach der *Zeisslerschen* Methode (Hochvakuumpumpe).

Die Bazillen aus den amerikanischen Hämoglobinurie- und den deutschen Bradsotstämmen stimmen morphologisch überein. Sie sind die längsten und dicksten Bazillen der Anaërobiegruppe, zeigen mehr oder weniger dicke, meist endständige Sporen und verlieren allmählich ihr grampositives Verhalten mit dem Älterwerden der Kulturen. Trotz nachweisbarer Geißeln sind nur selten mobile Exemplare zu finden. Die von uns ermittelte Resistenz der Sporen gegenüber strömendem Dampf entspricht den Befunden *Zeisslers* bei deutschen und amerikanischen Stämmen.

Die amerikanischen und deutschen Stämme bilden auf der Traubenzucker-Blutagar-Platte Einzelkolonien und zusammenhängende Rasen der Wuchsform II, vielfach jedoch auch der Wuchsform III. Im letzten Falle treten aber auf der Plattenserie mit ziemlicher Regelmäßigkeit Knöpfchen- oder Knötchenbildungen auf, die oft nicht im Zusammenhang mit größeren Kolonien sondern mit wahllos verstreuten sehr feinen Einzeläden stehen, die ihrerseits in Vertiefungen der Nährbodenoberfläche eingebettet liegen. Zum Teil recht beträchtliche Knöpfchen oder Knötchen bilden gewissermaßen den Abschluß von feinen und feinsten Doppellinien, die — vielfach gewunden — in Parallelanordnung aus den Randpartien von Einzelkolonien und Kolonierasen heraustreten. Diese Knötchen oder Knöpfchen haben einen gewissen diagnostischen Wert, wenn die

typische Wuchsform II nicht oder nur andeutungsweise aufgegangen ist.

Bei den anderen Nährböden der sogenannten „Anaërobenreihe“ haben wir uns streng an die *Zeissler*sehen Angaben gehalten, später aber gefunden, daß der Zusatz von Eiweiß in Form von Serum oder Ascites zur Leberbouillon für ein kräftiges Wachstum nicht erforderlich ist.

Auf die Zerlegung der Kohlenhydrate kann man sich bei den Bradsot- und Hämoglobinnriestämmen nicht verlassen.

Es besteht also in morphologischer und kultureller Beziehung und hinsichtlich der biochemischen Leistungen zwischen den Bazillen, die als Erreger der Hämoglobinurie der Rinder in Amerika angesprochen werden, und den deutschen Bradsot-erregern weitgehende Übereinstimmung.

Erst bei der Prüfung der Tierpathogenität der beiden Bazillen stößt man auf sinnfällige Unterschiede. Die Versuche wurden an Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen durchgeführt, für die die Erreger der beiden Krankheiten pathogen sind. Die Sektionsbilder sind aber so verschieden, daß man trotz der weiter oben angeführten übereinstimmenden Eigenschaften beider Bazillenarten eine scharfe Trennung durchführen muß. Der Erreger der deutschen Bradsot der Schafe, der von *Zeissler* den Namen *Bac. gigas* erhalten hat, kann also nicht identisch sein mit dem Erreger der Hämoglobinurie der Rinder in Chile, Argentinien, Nevada und Kalifornien. Der *Bac. gigas* entwickelt beim Meerschweinchen das wohlbekannte Krankheitsbild III nach *Zeissler*. Der Erreger der Rinderhämoglobinurie ruft beim Meerschweinchen ein Krankheitsbild hervor, das durch folgende Merkmale gekennzeichnet ist:

In der näheren und weiteren Umgebung der Infektionsstelle starker blutig gefärbtes Ödem ohne Gasblasen, Erguß in die Bauch- und Brusthöhle kräftig gelblichrot gefärbt. Milz vergrößert. Nieren tief dunkelrot. Leber vergrößert mit stellenweise helleren umschriebenen Bezirken. Nebennieren gerötet. Lunge

mit stecknadelkopfgroßen Blutungen. Magen- und Darmgefäße stark injiziert. Blase mit blutigem Harn gefüllt. Die gewaschenen Bazillen beider Arten sind nicht pathogen, dagegen vermögen deren keimfreie Filtrate die gleichen Krankheitsbilder zu erzeugen wie die Vollkulturen. Die pathogene Wirkung beider Bazillenarten beruht also auf Toxinwirkung.

Die nächste Aufgabe war nun, die Toxine beider Bazillenarten näher zu studieren, insbesondere über die neutralisierende Wirkung von antitoxischem Novyserum auf die Toxine der beiden Bazillenarten festzustellen. Wir wählten Novyserum, weil wir schon früher gesehen hatten, daß Gigastoxin durch dieses Serum im Gegensatz zum *Fränkel*-, *Pararanschbrand*- und *Histolyticus*serum zu neutralisieren war.

Bei unseren Toxinprüfungen gingen wir so vor, daß wir mit allen unseren Stämmen je einen Leberbouillonkolben beimpften und 7 Tage lang im *Zeisslerschen* Anaërobenapparat bebrüteten. Täglich wurden Probemengen entnommen, diese durch *Seitz*-filter geseiht und das filtrierte Toxin weißen Mäusen intravenös injiziert.

1. Gigastoxin.

Es wurden 12 fallende Dosen gewählt von 0,3—0,00005 ccm. Das Gift Nr. 43 tötete, um ein Beispiel herauszugreifen, alle 12 Mäuse dieser Reihe. Bei der Sektion zeigten nur die ersten 4 Mäuse, die 0,3, 0,2, 0,1 und 0,05 ccm Filtrat erhalten hatten, eine mit blutigem Harn gefüllte Blase. Hieraus folgerten wir, daß das giftige Kulturfiltrat der deutschen *Bradsot*stämme zwei verschiedene Toxine, nämlich ein schwächeres hämolytisches Gift — wirksam bis zur Verdünnung 1:20 — und ein in unserem Falle 1000mal stärkeres nicht hämolytisches Toxin enthält. Es mußte dann möglich sein, mit einem rein antihämotoxischen Serum, auf dessen Herstellung ich weiter unten zu sprechen komme, nur die Hämotoxinquote des Giftes Nr. 43, mit einem Novyserum dagegen die andere äußerst wirksame Giftquote zu neutralisieren.

a) Die vierfache Dosis hämotoxica minima sättigten wir im Überschuß mit antihämotoxischem Serum ab, gaben dann in 9 Stufen fallende Mengen Novyserum zu dem Gemisch hinzu, und zwar 0,1 ccm der Verdünnung 1:10 bis 1:50 000. Alle diese Toxinserummischungen wurden, ehe sie den Mäusen intravenös injiziert wurden, für 30 Minuten zur Bindung in den Brutschrank gestellt. Von der Verdünnung 1:10 bis 1:10 000 blieben alle Mäuse am Leben. Die Mäuse, die die Serumverdünnung 1:20 000 und 1:50 000 erhalten hatten, starben innerhalb 24 Stunden ohne die geringsten Spuren von Hämoglobinurie. Die eine äußerst wirksame Giftquote des Gigastoxins ist also identisch mit dem Novytoxin. Verdünnt man das Novyserum über den Höchstititer hinaus, so wird es unwirksam und die Novytoxinquote des Gigasgiftes tötet die Versuchstiere.

b) In einem weiteren Versuch wurden umgekehrt 0,2 ccm Gigastoxin mit Novyserum im Überschuß versetzt. Zu den stark überneutralisierten Serum-Gift-Mischungen gaben wir in 8 Stufen rein antihämotoxisches Serum in fallenden Dosen, und zwar 0,1 ccm der Verdünnungen 1:50 bis 1:50 000. Die Mischungen wurden nach einem halbstündigen Aufenthalt im Brutschrank Mäusen intravenös injiziert. Von der Verdünnung 1:50 bis 1:10 000 blieben alle Mäuse am Leben. Es ist jedoch hervorzuheben, daß die Mäuse, die die antihämotoxischen Serumverdünnungen von 1:50, 1:100 und 1:200 erhalten hatten, in jeder Beziehung gesund blieben, während die Mäuse, die in den Mischungen das antihämotoxische Serum in den Mengen von 1:500, 1:1000, 1:5000 und 1:10 000 erhalten hatten, vorübergehend Hämoglobinurie zeigten. Die Maus, der nur $\frac{1}{50\,000}$ ccm antihämotoxisches Serum in der Mischung mit injiziert worden war, starb mit Hämoglobinurie. Verdünnt man also das antihämotoxische Serum über einen gewissen Grad hinaus, so kann man zunächst das Auftreten einer vorübergehenden Hämoglobinnrie und bei noch stärkeren Serumverdünnungen den Eintritt des Todes nicht mehr verhindern.

Aus den Versuchen geht hervor, daß der *Bac. gigas* zwei verschiedene Giftquoten bilden kann:

1. die Novytoxinquote,
2. eine Hämotoxinquote, die man auf Grund unserer weiteren Prüfungen als spezifisch für den *Bac. gigas* und den Erreger der Hämoglobinurie der Rinder ansehen muß.

Die überwiegende Mehrzahl der von uns auf ihr Toxin geprüften deutschen Gigasstämme bildet die beiden Toxinquoten in den von uns verwendeten Nährböden gleichzeitig. Wir fanden aber 3 Stämme, die vorübergehend nur die Novygiftquote, manchmal nur die Hämotoxinquote entstehen ließen. Ein einziger Stamm, der Stamm 18 von *Zeissler*, kann nur Hämotoxin, und zwar in beträchtlicher Stärke, bilden. Bei allen bis heute wiederholten Prüfungen hat sich dieser Stamm unverändert in seiner Toxinproduktion gezeigt. Der *Bac. gigas* nimmt also hinsichtlich seines Toxinbildungsvermögens eine Mittelstellung zwischen dem *Bac. Novyi* und dem Erreger der Hämoglobinurie der Rinder ein, der, wie aus dem Folgenden hervorgeht, nur reines Hämotoxin zu bilden vermag.

2. Toxin des Erregers der Hämoglobinurie der Rinder.

Für unsere Untersuchungen standen uns 4 Stämme aus Fällen chilenischer Hämoglobinurie, 1 Stamm aus den nordamerikanischen Anden, von *Fawter* (Reno, in Nevada) aus einer Kuh herausgezüchtet und als *Cl. hæmolyticus bovis* bezeichnet, und 2 Stämme zur Verfügung, die uns *Sordelli* mit der Bezeichnung *Bac. hæmolyticus* (*Hall*) entgegenkommend zur Verfügung gestellt hatte. Den von *Fawter* herausgezüchteten Stamm haben wir Herrn Dr. *Zeissler* zu verdanken.

Gegen die Gifte dieser Stämme prüften wir unverdünnt und verdünnt *Frankel*-, *Pararanschbrand*-, *Histolyticus*- und *Novy*-Serum. Nicht ein einziges Serum zeigte eine irgendwie feststellbare neutralisierende Wirkung. Mit Hilfe der Toxine der von uns aus chilenischem Material herausgezüchteten Stämme stellten

wir vom Pferd ein rein antihämotoxisches Serum her, das bis zur Menge von $\frac{1}{2000}$ cem das Mehrfache der hämotoxischen Minimaldosis neutralisieren konnte. Bei noch stärkeren Verdünnungen starben die Mäuse mit Hämoglobinurie. Dieses antihämotoxische Serum ist gleichermaßen wirksam gegen die Gifte der oben genannten Stämme, die wir unter dem Namen Bac. hämolyticus zusammenfassen wollen, wie gegen das reine Hämotoxin des Zeisslerschen Gigasstammes Nr. 18 und gegen die Hämotoxinquote der Gigasstämme ganz allgemein.

Die von uns durchgeführten Toxinprüfungen zeigen:

1. Der Bac. gigas und der Bac. hämolyticus sind nicht identisch; denn der Bac. hämolyticus bildet nur Hämotoxin, während der Bac. gigas meistens gleichzeitig Novy- und Hämotoxin, selten entweder nur die eine oder andere Quote bildet.
2. Die Hämotoxinquote des Bac. gigas ist identisch mit dem Toxin des Bac. hämolyticus, seine andere Giftquote identisch mit dem Gift des Bac. Novyi.
3. Der Bac. gigas nimmt eine Mittelstellung zwischen Bac. Novyi und Bac. hämolyticus ein.
4. Bac. Novyi und Bac. hämolyticus bilden voneinander grundverschiedene, reine Gifte, wenigstens soweit dies hinsichtlich der Wirkungen im Tierversuch festgestellt werden kann.

Über Milzbrand-Impfungen und Milzbrand-Impfstoffe

DR. J. STEPHAN

Aus der Sero-bakteriologischen Abteilung „Bayer-Meister Lucius-Mehringwerke“,
Werk Hoechst

Trotz zahlreicher Publikationen, die sich an die klassischen Arbeiten von *Toussaint*, *Pasteur*, *Koch* und *Löffler* anschlossen, ist das Wesen der Milzbrand-Immunität auch heute noch nicht als völlig geklärt zu bezeichnen. Auch die von *Besredka* (1), seinen Mitarbeitern und Schülern in den letzten Jahren gelieferten Arbeiten haben das Problem noch nicht vollständig zu lösen vermocht. Diese Autoren bezeichnen die Haut als das für das Zustandekommen der Milzbrand-Infektion und Milzbrand-Immunität allein entscheidende Organ, in dem sich eine lokalisierte, reine Gewebsimmunität entwickeln soll. Gestützt wird ihre Auffassung durch die erfolgreiche Immunisierung von Meerschweinchen und Kaninchen auf kutanem, perkutanem und intrakutanem Wege, während durch Immunisierungsmethoden, die eine Hautinfektion ausschließen, eine Immunität nicht erzeugt werden konnte [*Besredka* (1), *Baltano* (2), *Solovieff* (3), *Platz* (4), *Negro* (34), *Urbain* und *Rossi* (5)]. Der durch subkutane Impfungen von Laboratoriumstieren und von Großtieren in der Praxis erzielte Immunisierungseffekt wird von *Besredka* darauf zurückgeführt, daß durch den bei der subkutanen Injektion entstehenden Stichkanal eine Kutaninfektion gesetzt wird.

Allerdings konnten die Befunde von mehreren anderen Autoren bei der Nachprüfung nicht bestätigt werden [*Glusman* (6), *Katzu* (7), *Wigotschikoff* (8), *Menotti* (45), *Tada* (9), *Cordier* (44), *Cramarossa*, *Neri* (47), *Bautz* und *Amiraslanow* (10), *Sobernheim* und *Murata* (51) u. a.]. Diesen gelang es zum Teil durch intrakutane Impfung ebenso wenig wie älteren Forschern durch subkutane Injektion, Meerschweinchen und Kaninchen regelmäßig zu immunisieren, oder der durch die Intrakutanmethode erzielte

Immunisierungsgrad war nicht größer als durch Vorbehandlung der Tiere mit subkutanen, intramuskulären oder intravenösen Injektionen. Es wird vermutet, daß die widersprechenden Ergebnisse zum Teil auf die ungleiche Versuchsanordnung, insbesondere auf die unterschiedliche Virulenz der zur Infektion benutzten Milzbrand-Kulturen zurückzuführen sind. Immerhin aber lassen die Arbeiten erkennen, daß es nicht herechtigt ist, dem Hautorgan die ausschließliche und entscheidende Bedeutung für das Zustandekommen der Milzbrand-Immunität beizumessen. Davon unberührt bleibt die Frage, ob durch die von *Besredka* empfohlene intradermale Impfung der Großtiere bessere Ergebnisse erzielt werden können, als mit der früher gebräuchlichen Methode der subkutanen Impfung. Die von *Velu* (11), *Altara* (12), *Monod* (13), *Elmanov* (14), *Laszlo* (52), *Donatien* (17), *Tatin* (16), *Soituz* (18), *Cernaianu* (19), *Nicolas* (20), *Rossi* (5), *Nevodoff* (21), *Nevodov* (15), *Dauvois* (22), *Ekrem* (23) erzielten Ergebnisse sprechen für die Richtigkeit dieser Annahme.

Altara (12) beurteilt die intradermale Impfung sehr günstig auf Grund seiner Erfahrungen bei 500000 Schafen, 100000 Rindern und 1000 Pferden, welche in den Jahren 1927 und 1928 in Sardinien geimpft wurden, und erwähnt nur seltene Mißerfolge.

Velu (11) kennzeichnet den Eintritt der Immunität nach der intradermalen Impfung als „explosiv“. Er führte die Impfung auch bei bereits ausgebrochenen Epizootien bei allen Tiergattungen durch und bezeichnet die Methode als das ökonomischste und durchschlagendste Milzbrand-Impfungsverfahren.

Monod und *Velu* (13) sowie *Tatin* und *Velu* (16) haben in Marokko 1924 etwa 65000 und 1925 über 100000 Impfungen nach *Besredka* bei Tieren der Truppen vollzogen. Das Ergebnis war eine sichere, dauernde Immunität, obwohl sich die Truppen an einem Seuchenherd befanden. Die Wirkung soll hier außerordentlich klar zutage getreten sein. Die Autoren erwähnen eine „explosiv“ aufgetretene Immunität, so daß in zahlreichen

Gebieten im folgenden Jahr überhaupt kein Milzbrand aufgetreten sei. Diese Erfolge führten dazu, daß die intradermale Schutzimpfung in Marokko heute die einzig gebräuchliche Methode ist.

Nicolas (20) berichtet über den günstigen Verlauf der zweizeitigen intradermalen Schutzimpfung bei Pferden und Maultieren in Syrien im Jahre 1925, das als besonders heftiges Milzbrand-Jahr bezeichnet wird.

Nevodoff (21) erzielte einen ausgezeichneten Impfschutz bei 4092 Impfungen, ohne daß unangenehme Reaktionen beobachtet worden sind.

Nevodov (15) kommt auf Grund seiner Erfahrungen bei der Cutivaccination bei 12 Pferden und 30 Rindern zu dem bemerkenswerten Ergebnis, daß die so immunisierten Tiere der starken Infektion in und unter die Haut und durch den Darm widerstanden, örtliche Reaktionen kaum auftraten und die Schutzwirkung bereits nach 11 Tagen nachzuweisen war.

Stoicescu (46) gibt seine Erfahrungen über die intradermale Impfung in Rumänien bekannt, wo in den Nachkriegsjahren starko Milzbrand-Epizootien auftraten und die Scrovaccination nicht mehr befriedigte. Er führte deshalb in den Jahren 1923 und 1924 intradermale Impfungen nach *Besredka* bei 2700 Pferden und 360 Ochsen durch, ohne auch nur einmal eine postvaccinale Infektion hervorzurufen, obgleich in der Gegend der Milzbrand stark herrschte. Da die Immunisierung keine allgemeine und örtliche Reaktion ergab und ein rasch einsetzender Schutz erzielt wurde, empfiehlt er die Methode in allen Fällen, wo eine Notimpfung am Platze ist.

Velu, *Balozet* und *Bigot* (48) sowie *Elmanov* (14) immunisierten Schafe durch intradermale Vaccination mit demselben Erfolg wie durch subkutane Injektionen.

Dauvois (22) erwähnt die Einfachheit, völlige Unschädlichkeit und genügende Wirksamkeit der intrakutanen Schutzimpfung für Schafe und Rinder, sofern diese aus milzbrandfreien Gegenden stammen.

Ekrem (23) erzielte in der Türkei bei Ziegen durch die intrakutane Impfung einen stärkeren Schutz als durch die subkutane Impfung und betont die Ungefährlichkeit des Verfahrens.

Cernaianu (19) hebt die Überlegenheit der *Besredka*-Methode auf Grund seiner Erfahrungen in Bessarabien hervor, wo in den Jahren 1926 und 1927 7508 Großtiere, 1929 Schafe und 482 Schweine mit bestem Erfolg in besonders gefährdeten Gegenden geimpft wurden, während frühere Impfungen nicht in gleichem Maße befriedigt hatten. Er sieht die Vorteile der *Besredka*-Impfung in der geringen örtlichen und allgemeinen Reaktion, im schnellen Eintreten und langen Vorhalten der Immunität und in der Möglichkeit, Arbeitstiere und Zuchttiere ohne ökonomische Verluste zu impfen.

Donatien (17) und seine Mitarbeiter erzielten bei der intradermalen Impfung mit 0,25 ccm sowohl bei Versuchsrindern als auch in der Praxis bei insgesamt 441 Tieren günstige Ergebnisse. Sie geben der intradermalen Impfung vor allen anderen den Vorzug, weil keine oder nur geringe örtliche Reaktionen auftreten, kein Impfmilzbrand vorkommt und ein schneller Impfschutz erreicht wird.

Laszlo (52) empfiehlt die Cutivaccination bei hochträchtigen Tieren und Milchkühen, da keine Reaktionen auftreten und der Milchertrag wenig oder überhaupt nicht beeinträchtigt wird.

Soituz (18) erzielte eine starke aktive Immunisierung durch eine Serovaccination bei 33 Pferden, denen er das Serum unter oder in die Haut und die Vaccine intradermal gab.

Demgegenüber treten die von *Huber* (48), *Rubinsky* (47), *Quin* (24), *Kudrjauzew* (25) gelieferten Berichte, welche eine solche Überlegenheit nicht erkennen lassen, in den Hintergrund. Wichtig ist allerdings, daß *Altara* (12), *Brune*, *Renauldon* und *Guyon* (26), *Bedun* und *Gaudichau* darauf aufmerksam machen, daß durch die einmalige intradermale Impfung von Schafen in mehreren Fällen ein nicht ausreichender Schutz gegen eine spätere natürliche Infektion festgestellt worden ist. Das ist eine

Beobachtung, die auch bei der Subkutanimpfung gemacht wurde, so daß von *Köves* und *Szelyes* (27), *Hruska* (28), *Schmiedhofer*, *Roman* (29) eine drei- oder mehrmalige Impfung in stärker infizierten Beständen empfohlen worden ist. Auf jeden Fall hat sich die intradermale Impfung nach *Besredka* in mehreren Ländern schon heute erfolgreich durchgesetzt, so daß zur Zeit die folgenden Immunisierungsmethoden in der Praxis gebräuchlich sind:

1. Die älteste Impfmethode nach *Pasteur*, eine zweimalige subkutane Injektion mit zwei verschiedenen stark thermisch abgeschwächten Bouillonkulturen (*Vaccin I* und *Vaccin II*), von denen die erstere nur für Mäuse, *Vaccin II* für Mäuse und Meerschweinchen, nicht aber für Kaninchen virulent ist.
2. Das Verfahren nach *Sobernheim*, eine der Rotlaufimpfung angepaßte einmalige subkutane Impfung mit Milzbrand-Serum und einer Milzbrand-Sporenvaccine (Simultanimpfung).
3. Die erstmalig von *Cienkowski*, später von *Eichhorn* (30), *Nitta* (31) u. a. empfohlene zwei- oder einmalige Impfung mit Milzbrand-Sporenvaccine (*Vaccina unica*).
4. Die von *Besredka* eingeführte Ontivaccination zwei- oder einmalig mit *Vaccin I* und *II* (*Pasteur*) oder einer Sporenvaccine¹⁾.

Wenn es auch gelungen ist, mit Hilfe des *Pasteur*schen Verfahrens in verseuchten Bezirken vor allem bei Rindern den Seuchenverlauf erheblich einzuschränken, so wurden andererseits doch insbesondere bei Schafimpfungen mehrfach Mißerfolge bekannt, die das Verfahren in der letzten Zeit in den Hintergrund gedrängt haben [*Belfanti* (32), *Köves* und *Szelyes* (27), *Eichhorn* (30), *Somogyi*, *Viljoen*, *Cernatianu* (19)]. Die Ursache der Fehlschläge liegt nach Meinung von *Ruppert* (50), *Rickmann*

¹⁾ Die *Bail* gelungene und von *Hruska* wiederholte Immunisierung von Laboratoriumstieren mit einem natürlichen Milzbrand-Aggressin hat schon aus technischen Gründen für die Immunisierung der Großtiere keine Bedeutung erlangt.

und *Joseph* (33) in der geringen Haltbarkeit, infolgedessen ungenauen Dosierung und unsicheren Virulenz der Impfstoffe.

Die unter Benutzung der weitaus haltbareren Sporenvaccine ausgeführte Simultanimpfung nach *Sobernheim* hat sich in verschiedenen Ländern gut bewährt. Ihr Vorteil besteht darin, daß bei nahezu völliger Ungefährlichkeit mit einer einmaligen Behandlung eine rasch eintretende, genügend starke und dauerhafte Immunität erzeugt wird und daß in einem Gange Schutz-, Not- und Heilimpfungen vorgenommen werden können [*Sobernheim* (51), *Riegler*, *Schnürer*, *Raebiger*, *Engel*, *Rickmann* und *Joseph* (33)].¹⁾

Nach den guten Erfolgen, die mit der Verimpfung der Sporenvaccine in Rußland von *Cienkowski*, in Japan von *Nitta* (31), in Südafrika von *Viljoen*, *Curson* und *Fourie* und in Amerika von *Eichhorn* (30) erzielt wurden, hat diese Methode insbesondere in jenen Ländern, wo Massenimpfungen oftmals durch Laien ausgeführt werden, infolge ihrer einfachen Anwendungsweise die stärkste Verbreitung gefunden, zumal es unter normalen Verhältnissen offenbar gelingt, mit einer einmaligen subkutanen Injektion (*Vacuna uniea*) einen ausreichenden Impfschutz zu erzeugen.

Der Cutivaccination (Intradermalimpfung nach *Besredka*) rühmen ihre Anhänger außer der Einfachheit und rasch eintretenden zuverlässigen Wirksamkeit bei allen Tiergattungen nach, daß sie besonders ökonomisch sei und, da sie keine oder nur geringe örtliche und allgemeine Reaktionsercheinungen verursache, auch für Milchkühe und Arbeitstiere angewandt werden könne.

¹⁾ Die Wirksamkeit des zur Simultanimpfung benutzten Milzbrand-Serums kann nach *Sobernheim* am Kaninchen, nach *Ascoli* oder *Rickmann* und *Joseph* am Meerschweinchen bestimmt werden. Wenn auch infolge der individuellen Infektionsfähigkeit eine exakte Titrierung des Gehaltes an Immunstoffen nicht möglich ist, so gestatten diese Methoden dennoch die Wirksamkeit spezifischer Sera gegenüber unbrauchbaren zu erkennen.

Bei allen Verfahren ist in weitgehendem Maße der Erfolg geknüpft an die genügende Virulenz, die richtige Dosierung und die Haltbarkeit der angewandten Impfstoffe. Es kann nach den Erkenntnissen von *Ruppert* (50), *Martos* (35), *Quin* (24), *Negasawa* (36), *Marcer* und *Wernicke* (43) kein Zweifel darüber bestehen, daß Voraussetzungen für die Wirksamkeit der Impfstoffe eine genügend große Zahl von vegetativen oder versporteten, lebenden Milzbrandkeimen pro Impfdosis, ihre Reinheit und geeignete Konservierung sind und daß ferner die Auswahl von gut antigenwirkenden Stämmen von besonderer Wichtigkeit ist [*Ruppert* (50), *Bekker* (37), *Geoffroy* (38), *Velikoreckij* und *Kosarev* (39)]. Werden diese Bedingungen nicht erfüllt, so werden Mißerfolge auftreten, zumal wenn den Seuchenverlauf begünstigende Einflüsse wie Regen, Kälte, Wind, feuchte Weiden [*Harnaeh* (40)] und unzumutbare Fütterung [*Hruska* (28)] hinzutreten.

Unter diesen Umständen ist es ebenso verständlich wie wünschenswert, daß eine staatliche Prüfung der Milzbrand-Impfstoffe schon von verschiedenen Seiten gefordert wurde [*Kraus* und *Beltrami* (50), *Lignières* (51), *Desezeaux* (41), *Ruppert* und *Andrien* (50)].

Da unsere Milzbrand-Impfstoffe in den verschiedensten Ländern der Welt in großem Ausmaße zur Anwendung gelangen, bietet sich uns eine besondere Gelegenheit zur Sammlung von Erfahrungen. Mangels einer staatlichen Kontrolle waren wir von jeher bemüht, unsere Impfstoffe vor ihrer Ausgabe und während ihrer Laufzeit einer Prüfung zu unterziehen.

Um ein Urteil über die in den einzelnen Ländern gebräuchlichen Präparate zu gewinnen, haben wir im Verlauf unserer Arbeiten 86 verschiedene Muster von 21 Herstellungsstätten bezüglich ihrer Reinheit, ihres Gehalts an vegetativen Keimen oder Sporen, ihrer Keimzahl, ihrer Konservierungsmethode und ihrer Virulenz gegenüber Meerschweinchen von gleichem Gewicht geprüft. Es soll hier auf die Bekanntgabe der Einzelergebnisse

verzichtet werden. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß es sich in der überwiegenden Mehrzahl um Sporenvaccinen handelte, wobei die Sporen in physiologischer Kochsalzlösung oder Glycerinlösung mit oder ohne Phenolzusatz aufgenommen waren, während der kleinere Teil der untersuchten Muster Bouillon- oder Serumhouillonkulturen waren, die aus vegetativen Keimen, teilweise auch aus Sporen bestanden. Die für die Rinder vorgeschriebene Impfdosis schwankte zwischen 0,25 und 1 cem, in einem Fall 2 cem; die für Schafe angegebene Dosis war jeweils die Hälfte der Rinderdosis. Die weitaus größte Zahl der untersuchten Präparate waren sogenannte Einheitsvaccinen (*Vaccina unica*), mit denen die Immunisierung durch eine einmalige subkutane Injektion vollzogen wird. Nur einzelne waren Doppelvaccinen, bei denen eine zweimalige subkutane Injektion vorgesehen war, wie dies auch bei den *Pasteurschen* Impfstoffen mit Vaccin I und II geschieht. Ganz enorme Unterschiede bestanden in der Keimzahl pro Impfdosis für das Rind. Ganz abgesehen von einzelnen wertlosen Präparaten, die überhaupt keine vermehrungsfähigen Keime enthielten oder deren Keimzahl infolge starker Verunreinigung mit anderen Bakterien nicht bestimmt werden konnte, zeigten die Impfstoffe Schwankungen in der Zahl der Keime von einigen Hundert bis zu vielen Millionen pro Impfdosis. Dieser Befund ist nicht so überraschend, wenn man bedenkt, daß die geprüften Präparate ein verschiedenes Alter hatten; denn der Keimgehalt nimmt nach Untersuchungen von *Ruppert*, die wir vollauf bestätigen können, mit zunehmendem Alter je nach der Herstellungsart und Konservierungsmethode in verschieden starkem Maße ab. Auch bezüglich der Virulenz, die an Meerschweinchen von gleichem Gewicht festgestellt wurde, ergaben sich starke Differenzen, wobei die den Einzelindividuen eigene, verschieden große Resistenz durch die an einer großen Zahl von Tieren erfolgte Prüfung wohl berücksichtigt wurde. Bei einzelnen Präparaten war die mehrfache der für Rinder bestimmten Dosis für Meerschweinchen völlig avirulent, während von dem

Bei allen Verfahren ist in weitgehendem Maße der Erfolg geknüpft an die genügende Virulenz, die richtige Dosierung und die Haltbarkeit der angewandten Impfstoffe. Es kann nach den Erkenntnissen von *Ruppert* (50), *Martos* (35), *Quin* (24), *Nagasawa* (36), *Marecr* und *Wernicke* (43) kein Zweifel darüber bestehen, daß Voraussetzungen für die Wirksamkeit der Impfstoffe eine genügend große Zahl von vegetativen oder versporteten, lebenden Milzbrandkeimen pro Impfdosis, ihre Reinheit und geeignete Konservierung sind und daß ferner die Auswahl von gut antigenwirkenden Stämmen von besonderer Wichtigkeit ist [*Ruppert* (50), *Bekker* (37), *Groffroy* (38), *Velikoreckij* und *Kosarev* (39)]. Werden diese Bedingungen nicht erfüllt, so werden Mißerfolge auftreten, zumal wenn den Seuchenverlauf begünstigende Einflüsse wie Regen, Kälte, Wind, feuchte Weiden [*Harnach* (40)] und unzureichende Fütterung [*Mruska* (28)] hinzutreten.

Unter diesen Umständen ist es ebenso verständlich wie wünschenswert, daß eine staatliche Prüfung der Milzbrand-Impfstoffe schon von verschiedenen Seiten gefordert wurde [*Kraus* und *Beltrami* (50), *Lignières* (51), *Descazeaux* (41), *Ruppert* und *Andrien* (50)].

Da unsere Milzbrand-Impfstoffe in den verschiedensten Ländern der Welt in großem Ausmaße zur Anwendung gelangen, bietet sich uns eine besondere Gelegenheit zur Sammlung von Erfahrungen. Mangels einer staatlichen Kontrolle waren wir von jeher bemüht, unsere Impfstoffe vor ihrer Ausgabe und während ihrer Laufzeit einer Prüfung zu unterziehen.

Um ein Urteil über die in den einzelnen Ländern gebräuchlichen Präparate zu gewinnen, haben wir im Verlauf unserer Arbeiten 86 verschiedene Muster von 21 Herstellungsstätten bezüglich ihrer Reinheit, ihres Gehalts an vegetativen Keimen oder Sporen, ihrer Keimzahl, ihrer Konservierungsmethode und ihrer Virulenz gegenüber Meerschweinchen von gleichem Gewicht geprüft. Es soll hier auf die Bekanntgabe der Einzelergebnisse

verzichtet werden. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß es sich in der überwiegenden Mehrzahl um Sporenvaccinen handelte, wobei die Sporen in physiologischer Kochsalzlösung oder Glycerinlösung mit oder ohne Phenolzusatz aufgenommen waren, während der kleinere Teil der untersuchten Muster Bouillon- oder Serumbouillonkulturen waren, die aus vegetativen Keimen, teilweise auch aus Sporen bestanden. Die für die Rinder vorgeschriebene Impfdosis schwankte zwischen 0,25 und 1 cem, in einem Fall 2 cem; die für Schafe angegebene Dosis war jeweils die Hälfte der Rinderdosis. Die weitaus größte Zahl der untersuchten Präparate waren sogenannte Einheitsvaccinen (*Vacuna unica*), mit denen die Immunisierung durch eine einmalige subkutane Injektion vollzogen wird. Nur einzelne waren Doppelvaccinen, bei denen eine zweimalige subkutane Injektion vorgesehen war, wie dies auch bei den *Pasteurschen* Impfstoffen mit *Vaccin I* und *II* geschieht. Ganz enorme Unterschiede bestanden in der Keimzahl pro Impfdosis für das Rind. Ganz abgesehen von einzelnen wertlosen Präparaten, die überhaupt keine vermehrungsfähigen Keime enthielten oder deren Keimzahl infolge starker Verunreinigung mit anderen Bakterien nicht bestimmt werden konnte, zeigten die Impfstoffe Schwankungen in der Zahl der Keime von einigen Hundert bis zu vielen Millionen pro Impfdosis. Dieser Befund ist nicht so überraschend, wenn man bedenkt, daß die geprüften Präparate ein verschiedenes Alter hatten; denn der Keimgehalt nimmt nach Untersuchungen von *Ruppert*, die wir vollauf bestätigen können, mit zunehmendem Alter je nach der Herstellungsart und Konservierungsmethode in verschieden starkem Maße ab. Auch bezüglich der Virulenz, die an Meerschweinchen von gleichem Gewicht festgestellt wurde, ergaben sich starke Differenzen, wobei die den Einzelindividuen eigene, verschieden große Resistenz durch die an einer großen Zahl von Tieren erfolgte Prüfung wohl berücksichtigt wurde. Bei einzelnen Präparaten war die mehrfache der für Rinder bestimmten Dosis für Meerschweinchen völlig avirulent, während von dem

virulentesten Impfstoff der 400. Teil der vorgeschriebenen Rinderdosis genügte, um die Meerschweinchen regelmäßig zu töten. Von diesen Extremen abgesehen, bewegte sich der Quotient zwischen Impfdosis für Rinder und tödlicher Dosis für Meerschweinchen bei der Mehrzahl der untersuchten Präparate zwischen den Größenordnungen von 10 und 0,5. Dazu muß bemerkt werden, daß nicht nur Präparate verschiedener Herkunft sich in dieser Weise unterschieden, daß vielmehr auch verschiedene Operationsnummern von Mustern gleicher Herstellungsstätten oft sehr erhebliche Abweichungen in bezug auf Keimzahl und Virulenz zeigten.

Diese Feststellung bestätigt zur Genüge die Zweckmäßigkeit und Notwendigkeit unserer Bestrebungen, für unsere Impfstoffe eine Standardisierung oder wenigstens grundsätzliche Richtlinien für ihre Herstellung und Prüfung zu erreichen, welche eine möglichst lange Haltbarkeit und gleichmäßige Wirkung gewährleisten. Vorschläge für eine staatliche Prüfung der Milzbrand-Impfstoffe wurden bereits u. a. von *Ruppert* und *Andrien* (32) in Argentinien und von *Descarreaux* (41) in Chile gemacht, also in jenen Ländern, in denen infolge der stärkeren Verbreitung des Milzbrands die prophylaktische Bekämpfung durch Impfung im besondern Ausmaße vorgenommen wird. So stellen *Ruppert* und *Andrien* (32) auf Grund ihrer Laboratoriumsversuche und Erfahrungen aus der Praxis an einen für Schafe geeigneten Impfstoff die folgenden Anforderungen und verlangen von dem Rinderimpfstoff die doppelte Stärke:

1. soll der Impfstoff außer abgeschwächten Milzbrand-Keimen keine anderen Bakterien enthalten (Reinheit);
2. soll die Impfdosis für Schafe mindestens 5000 Keime haben;
3. soll jede Dosis des ersten Impfstoffes (Vaccin I) von 8 Meerschweinchen mit einem Gewicht von 125—175 g mindestens 2 töten; die Dosis des zweiten Impfstoffes (Vaccin II) soll Meerschweinchen von 125—150 g töten und von 8 Meerschweinchen von 250—300 g mindestens 2

töten; die Dosis der Einheitsvaccine (*Vacuna unica*) soll mindestens 75 % der Meerschweinchen von 125—150 g töten.

4. soll jeder Doppelimpfstoff und jeder einfache Impfstoff Meerschweinchen von 500—800 g in wenigstens 25 % der Fälle gegen eine Infektion mit einem Milzbrand-Stamm schützen, der gerade noch Kontrolltiere in 4—6 Tagen tötet. Die Immunisierung muß intradermal ausgeführt werden.

Descazeaux fordert außer der Kontrolle der Verpackung, der Angabe der Wirkungskdauer und einer genauen Gebrauchsanweisung ebenfalls die Prüfung auf Reinheit, auf Virulenz an Laboratoriumstieren und auf Wirksamkeit an Rindern, Schafen und Pferden. Bezüglich der Virulenz verlangt er, daß ein Vaccin I für Mäuse, nicht dagegen für Meerschweinchen und Kaninchen, das Vaccin II und die *Vacuna unica* für Mäuse und Meerschweinchen tödlich ist.

Obwohl das Interesse an der Kontrolle der im Handel befindlichen veterinär-medizinischen Präparate, besonders auch der Milzbrand-Impfstoffe, von jeher sehr groß ist, vermochten die bislang gemachten Vorschläge außer in Chile in den übrigen Ländern noch nicht die Grundlage zur Einführung einer staatlichen Prüfung zu geben, wofür die Möglichkeit einer exakten Auszählung der Präparate Voraussetzung ist. Auch wir lernten die Schwierigkeit dieser Aufgabe im Verlauf unserer Arbeiten gründlich kennen. Schon die bescheidene Forderung von *Ruppert* und *Andrien*, daß bei der Virulenzbestimmung jeweils nur 25 % der geimpften Meerschweinchen sterben müssen, 75 % aber überleben können, weist auf die große Unsicherheit und die dadurch gegebene beschränkte Bedeutung dieser Reaktion hin. Ähnlich ungünstig liegen die Verhältnisse bei der Immunitätsprüfung. Die verschieden individuelle Resistenz der Laboratoriumstiere (Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen) bietet hier die größten Schwierigkeiten.

Im Gegensatz zu der genannten Dosierungsmöglichkeit vollvirulenten Milzbrand-Stämmen für vollempfängliche Tierarten mußten auch wir in Übereinstimmung mit *Sobernheim* (34) bei unseren Vaccinestämmen die Erfahrung machen, daß die mit der gleichen Dosis geimpften Meerschweinchen auch unter Berücksichtigung ihres Gewichts so verschiedenartig und unregelmäßig reagierten, daß ihr Verhalten sicher keine Grundlage für eine exakte Austitrierung sein kann, wie dies bei der staatlichen Kontrolle der Impfstoffe verlangt werden muß. Nichtsdestoweniger ist diese Prüfung für den erfahrenen Hersteller jedoch ein nicht zu unterschätzendes Merkmal für die Unschädlichkeit und Wirksamkeit.

Über die Schwierigkeiten der aktiven Immunisierung von Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen berichten zahlreiche Forscher [*Koch, Gaffky, Löffler, Roux* und *Chamberland* (51), *Wernicke* (34), *Tada* (9), *Marino* (42) u. a.]. Wir können die Auffassung *Sobernheims* nur unterstützen, daß die Immunisierung von Laboratoriumstieren ebenso schwer, wie sie bei größeren Haustieren nach den Erfahrungen in der Praxis verhältnismäßig leicht gelingt. Auch die intradermale Impfung (Entivaccination) der kleinen Tiere scheint nicht so zuverlässig zu sein, als daß sie zur exakten Prüfung von Impfstoffen angewandt werden könnte. Jedenfalls konnten *Glusman* (6), *Katzu* (7), *Wigotschikoff* (8), *Menotti* (45) u. a. eine Immunisierung bei kleinen Tieren mit dieser Methodo nicht erzielen. Auch die Protokolle von *Ruppert* und *Andrien* lassen die Unsicherheit dieser Prüfungsmethode erkennen, und die bescheidene Forderung, daß wiederum nur 25 % aller vorbehandelten Tiere gegen eine spätere Infektion mit einer einfachen tödlichen Dosis geschützt sein sollen, zeigt allein, daß sie nach dem bei der staatlichen Prüfung anderer Impfstoffe geltenden Maßstab dafür wenig geeignet ist. Dazu kommt, daß bis zum Abschluß der Prüfung stets mindestens mehrere Wochen verstreichen, ein Zeitraum, der bei Prüfung laufender Operationsnummern nicht immer zur Verfügung steht. Solche Nachteile

mindern den Wert dieser Prüfungsmethode so erheblich, daß wir im Hinblick auf die allgemein anerkannte und in der Praxis seit Jahrzehnten in zahllosen Fällen erwiesene Tatsache, daß man Großtiere mit gut antigen wirkenden, lebenden Milzbrand-Keimen immunisieren kann, davon absahen, die Methode zur Prüfung der laufenden Operationsnummern an Laboratoriumstieren zu verwenden, die antigene Wirkung unserer Ausgangskulturen vielmehr an Schafen prüfen. Daß andererseits auf die laufende Prüfung jeder neu hergestellten Operationsnummer auf Virulenz und Keimzahl an einer genügend großen Zahl von Laboratoriumstieren nicht verzichtet werden kann, zeigt uns folgende Beobachtung.

Nach den in der Literatur vorhandenen Angaben soll jeder durch Züchtung bei hoher Temperatur einmal abgeschwächte Milzbrand-Stamm seine Virulenz sowohl bei Fortzüchtung auf den gewöhnlichen Nährböden als auch bei Tierpassage beibehalten (*Pasteur, Roux und Chamberland*), nur *Hruska* (28) hat eine auffällige Labilität der abgeschwächten Stämme beobachtet. Im Verlauf unserer Arbeiten stellten wir bei Konservierung der Sporen verschiedener Milzbrand-Vaccinestämme in einer Glycerin-Kochsalz-Lösung etwas ähnliches fest. Wir beimpften, ausgehend von einer Einzelkolonie eines jeden Stammes, zahlreiche Agarröhrchen und schwemmten die Keime nach ihrer völligen Versporung mit einer Glycerin-Kochsalz-Lösung ab. In verschiedenen Abständen wurde sowohl die Keimzahl als auch die Virulenz dieser Sporensuspension an einer Reihe gleichschwerer Meerschweinchen geprüft. Während die Sporenzahl sich mit zunehmendem Alter verminderte, blieb die Virulenz monatelang ungefähr dieselbe, ein Zeichen, daß die Keimzahl nicht direkt proportional der Virulenz für Meerschweinchen ist, wenigstens solange noch ein genügend großer Reichtum an Sporen vorhanden ist. Mit diesen Sporenemulsionen wurden nach einigen Monaten Agarplatten beimpft. Wiederum ausgehend von einer Einzelkolonie, wurden zahlreiche Agarröhrchen angelegt und die

Keime nach völliger Versporung in der gleichen Weise in Glycerin-Kochsalz-Lösung aufgenommen. Der Nährboden, der zur Herstellung der Sporenemulsion diente, war nach dem gleichen Rezept ohne bewußte Änderung hergestellt und auf die gleiche pH-Zahl eingestellt. Bei Feststellung der Virulenz der neuen Emulsion an gleichschweren Meerschweinchen unter denselben Bedingungen wie früher ergab sich nun die überraschende Feststellung, daß ohne ersichtlichen Grund eine verschieden starko Virulenzsteigerung aufgetreten war. Im extremsten Falle war eine Virulenzsteigerung um das 300fache gegenüber der Ausgangsvaccine zu verzeichnen. Wir erklären uns diese Beobachtung so, daß trotz Ausgang von einer Einzelkolonie nicht alle Sporenelemente die gleiche Resistenz und Virulenz haben. Die schwächeren fallen im Verlauf einiger Monate der Sporolyse anheim, während die widerstandsfähigsten erhalten bleiben. Dies sind aber auch gleichzeitig die virulentesten. Werden sie auf geeigneten Nährböden zur Auskeimung und wiederum zur Versporung gebracht, so erlangen die ausschließlich von ihnen hergestellten Vaccinen mit großer Keimzahl eine gesteigerte Infektiosität. Wie dem auch sei, jedenfalls hätten solche Impfstoffe ohne Nachprüfung ihrer Virulenz eventuell Schaden anrichten können, wenn auch der Beweis noch zu erbringen ist, daß die für Meerschweinchen beobachtete starke Virulenzsteigerung auch in ähnlicher Weise für die großen Haustiere zutrifft.

Wenn es, wie oben angedeutet, auch nicht möglich ist, durch Impfung von Meerschweinchen die Infektiosität von Impfstoffen genau festzustellen, so gelingt es immerhin doch, durch Serienimpfungen das Maß ihrer Verträglichkeit zu bestimmen, daß Impfschäden vermieden werden können, und andererseits die Breite ihrer Virulenz zu erkennen, welche ihre Brauchbarkeit verbürgt.

Unsere Erfahrungen lehren weiter, daß darauf geachtet werden muß, daß in den Impfstoffen eine genügend große Zahl von Sporen auch nach längerer Lagerzeit enthalten sein muß,

was durch geeignete Herstellungsart und Konservierungsmethode erreicht werden kann. Mit Rücksicht auf die Wichtigkeit der Dosierung halten wir es für zweckmäßig, als Rinderdosis nicht weniger als 1 cem zu fordern. Dadurch werden Fehler, welche bei kleinerer Dosierung bei den oft durch Laien vorgenommenen Impfungen leicht entstehen können, weitestgehend vermieden. Ob an die Impfstoffe für die intradermale Impfung (*Cutivaecination*) nach *Besredka* die gleichen Forderungen gestellt werden müssen, können wir mangels eigener Erfahrung nicht entscheiden. Es wird behauptet, daß die Immunisierung mit geringerer Dosierung gelingt als bei der Subkutanimpfung. Für unsere subkutan zu injizierenden Sporenimpfstoffe verlangen wir jedenfalls auf Grund der in den letzten Jahren bei ihrer Herstellung und mit ihrer Anwendung in der Praxis gemachten Erfahrungen die Einhaltung folgender Richtlinien:

1. Jede zur Ausgabe gelangende Operation wird an Meerschweinchen geprüft. Die Impfstoffe bestehen aus der Suspension vollausgereifter und auskeimfähiger Sporen verschiedener, abgeschwächter Milzbrand-Stämme, die auf ihre antigene Eigenschaft an Schafen geprüft sind (Polyvalenz).

2. Die Anwesenheit anderer Keime ist unzulässig (Reinheit).

3. In der Impfdosis von 1 cem für das Rind müssen mindestens 50 000 auskeimfähige Sporen vorhanden sein. Sinkt die Sporenzahl nach der in regelmäßigen Abständen vorgenommenen Prüfung unter 50 000, so wird die Operation aus dem Handel gezogen.

4. Bezüglich der Stärke wird der Impfstoff so eingestellt, daß eine halbe bis einfache Rinderdosis die Mehrzahl einer Serie von Meerschweinchen im Gewicht von 125—150 g tötet, Kaninchen von 1500—2000 g jedoch in der Regel am Leben läßt.

5. Außerdem wird die Verträglichkeitsprüfung an einzelnen Haustieren durchgeführt. Schafe und Rinder müssen die doppelte Impfdosis vertragen, ohne zu erkranken.

Keime nach völliger Versperung in der gleichen Weise in Glycerin-Kochsalz-Lösung aufgenommen. Der Nährboden, der zur Herstellung der Sporenemulsion diente, war nach dem gleichen Rezept ohne bewußte Änderung hergestellt und auf die gleiche pH-Zahl eingestellt. Bei Feststellung der Virulenz der neuen Emulsion an gleichschweren Meerschweinchen unter denselben Bedingungen wie früher ergab sich nun die überraschende Feststellung, daß ohne ersichtlichen Grund eine verschieden starke Virulenzsteigerung aufgetreten war. Im extremsten Falle war eine Virulenzsteigerung um das 300fache gegenüber der Ausgangsvaccine zu verzeichnen. Wir erklären uns diese Beobachtung so, daß trotz Ausgang von einer Einzelkolonie nicht alle Sporenelemente die gleiche Resistenz und Virulenz haben. Die schwächeren fallen im Verlauf einiger Monate der Sporolyse anheim, während die widerstandsfähigsten erhalten bleiben. Dies sind aber auch gleichzeitig die virulentesten. Werden sie auf geeigneten Nährböden zur Auskeimung und wiederum zur Versporung gebracht, so erlangen die anschließend von ihnen hergestellten Vaccinen mit großer Keimzahl eine gesteigerte Infektiosität. Wie dem auch sei, jedenfalls hätten solche Impfstoffe ohne Nachprüfung ihrer Virulenz eventuell Schaden anrichten können, wenn auch der Beweis noch zu erbringen ist, daß die für Meerschweinchen beobachtete starke Virulenzsteigerung auch in ähnlicher Weise für die großen Haustiere zutrifft.

Wenn es, wie oben angedeutet, auch nicht möglich ist, durch Impfung von Meerschweinchen die Infektiosität von Impfstoffen genau festzustellen, so gelingt es immerhin doch, durch Serienimpfungen das Maß ihrer Verträglichkeit zu bestimmen, daß Impfschäden vermieden werden können, und andererseits die Breite ihrer Virulenz zu erkennen, welche ihre Brauchbarkeit verbürgt.

Unsere Erfahrungen lehren weiter, daß darauf geachtet werden muß, daß in den Impfstoffen eine genügend große Zahl von Sporen auch nach längerer Lagerzeit enthalten sein muß,

was durch geeignete Herstellungsart und Konservierungsmethode erreicht werden kann. Mit Rücksicht auf die Wichtigkeit der Dosierung halten wir es für zweckmäßig, als Rinderdosis nicht weniger als 1 ccm zu fordern. Dadurch werden Fehler, welche bei kleinerer Dosierung bei den oft durch Laien vorgenommenen Impfungen leicht entstehen können, weitestgehend vermieden. Ob an die Impfstoffe für die intradermale Impfung (Cutivaccination) nach *Besredka* die gleichen Forderungen gestellt werden müssen, können wir mangels eigener Erfahrung nicht entscheiden. Es wird behauptet, daß die Immunisierung mit geringerer Dosierung gelingt als bei der Subkutanimpfung. Für unsere subkutan zu injizierenden Sporenimpfstoffe verlangen wir jedenfalls auf Grund der in den letzten Jahren bei ihrer Herstellung und mit ihrer Anwendung in der Praxis gemachten Erfahrungen die Einhaltung folgender Richtlinien:

1. Jede zur Ausgabe gelangende Operation wird an Meerschweinchen geprüft. Die Impfstoffe bestehen aus der Suspension vollausgereifter und auskeimfähiger Sporen verschiedener, abgeschwächter Milzbrand-Stämme, die auf ihre antigene Eigenschaft an Schafen geprüft sind (Polyvalenz).

2. Die Anwesenheit anderer Keime ist unzulässig (Reinheit).

3. In der Impfdosis von 1 ccm für das Rind müssen mindestens 50 000 auskeimfähige Sporen vorhanden sein. Sinkt die Sporenzahl nach der in regelmäßigen Abständen vorgenommenen Prüfung unter 50 000, so wird die Operation aus dem Handel gezogen.

4. Bezüglich der Stärke wird der Impfstoff so eingestellt, daß eine halbo bis einfache Rinderdosis die Mehrzahl einer Serie von Meerschweinchen im Gewicht von 125—150 g tötet, Kaninchen von 1500—2000 g jedoch in der Regel am Leben läßt.

5. Außerdem wird die Verträglichkeitsprüfung an einzelnen Haustieren durchgeführt. Schafe und Rinder müssen die doppelte Impfdosis vertragen, ohne zu erkranken.

Diese Richtlinien haben sich aus den Erfahrungen bei den Laboratoriumsarbeiten und denen der Praxis ergeben. Sie sind praktisch durchführbar. Ihre Befolgung ermöglicht es dem erfahrenen Bakteriologen, Impfstoffe herzustellen, die den Erfordernissen in der Praxis genügen und bei richtiger Anwendungsweise unangenehme Zwischenfälle bei der Impfung vermeiden lassen, die auf Konto der Impfstoffe zu buchen wären.

Literatur

- (1) *Besredka*: Vaccination par voie cutanée. Charbon: anti-infection, anti-vaccination, anti-immunité. Annales de l'Institut Pasteur 1921. — Vaccination contre le charbon par voie cutanée. Compt. rend. soc. biol. 1920, Bd. 83. — Immunité générale par immunisation générale. Bull. Pasteur 1922, 1924. — Rôle de la peau dans l'immunité naturelle au cours des infections et dans l'immunité acquise. Bull. Pasteur 1925.
- (2) *Battano*: Sur la cuti-immunisation anticharbonneuse chez les cobayes. Compt. rend. soc. biol. 1922, Bd. 87. — Sur la cuti-infection chez les lapins et les cobayes. Compt. rend. soc. biol. 1922, Bd. 87. — L'infection charbonneuse et l'immunité anticharbonneuse chez les lapins et les cobayes. Annales de l'Institut Pasteur 1922.
- (3) *Solovieff*: De la cuti-immunisation du cobaye contre le charbon par le procédé de *Besredka* au moyen des vaccins *Cienkovsky*. Annales de l'Institut Pasteur 1928.
- (4) *Plotz*: Rôle de la peau dans l'infection et l'immunité charbonneuse. Annales de l'Institut Pasteur 1924, S. 109.
- (5) *Rossi*: De la cuti-vaccination du cobaye contre le charbon au moyen du premier vaccin seul. Compt. rend. soc. biol. 1926, Bd. 95, S. 1138. — *Urbain et Rossi*: Vaccination du lapin contre le charbon par le liquide d'œdème. Compt. rend. soc. biol. 1927, Bd. 96, Nr. 9, S. 599—600.
- (6) *Glusman*: Negative Resultato bei Immunisierung von Meerschweinchen gegen Milzbrand nach der Methode von *Besredka*. Zeitschr. f. Hyg. 1924, Bd. 102.
- (7) *Katzu*: Versuche über die Infektionsfähigkeit des Milzbrandbacillus. Zentralbl. f. Bakt. 1925, Bd. 109.
- (8) *Wigotschkoff*: Die Hautvaccination gegen Milzbrand. Zeitschr. f. Immunitätsforschung 1925, Bd. 42.
- (9) *Tada*: Ist die Milzbrandimmunität an das Hautorgan gebunden? Zentralbl. f. Bakt. 1924, Bd. 91.

- (10) *Bautz und Amiraslanoff*: Über die Hautinfektion und Hautimmunität bei Milzbrand. Zeitschr. f. Immunitätsforschung 1928, Bd. 56.
- (11) *Velu*: Rapidité de l'immunisation du mouton contre le charbon bactérien par intradermo-vaccination en un temps etc. Bull. soc. path. exot. 1924, Bd. 17. — Essai concluant d'intradermo-vaccination contre le charbon bactérien en milieu profondément infecté. Bull. soc. path. exot. 1924, Bd. 17. — Intradermo-vaccination en un temps contre le charbon bactérien. (Recherches expérimentales. Résultats pratiques.) Rev. vétérin. milit. 1926, Bd. 10, II. 4, S. 377—414. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1927.) — Essai d'intradermo-vaccination du mouton contre le charbon. Compt. rend. soc. biol. 1924, Bd. 99, S. 746. — Vaccination contre le charbon bactérien par inoculation intradermique en un temps. Annales de l'Institut Pasteur 1927, Bd. 41.
- (12) *Altara*: Sulla durata dell'immunità negli ovini sottoposti alla vaccinazione unica intradermica contro il carbonchio ematico. Nuova vet. 1929, 7, 157—159. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1930.)
- (13) *Monod et Velu*: L'intradermovaccination en un temps contre le charbon bactérien et ses avantages. Compt. rend. soc. biol. 1925, Bd. 92, S. 251. — La vaccination intradermique contre le charbon bactérien, au Maroc, d'après les résultats pratiques. Rev. vétérin. milit. 1929, Bd. 10, II. 2, S. 165—172. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1927.)
- (14) *Elmanov*: Zur Frage über die Schutzimpfungen beim Milzbrand. Prakticeskaja veterinarija i konevodstvo 1927, H. 6, S. 43—48. (Russisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1928.) — Zu den Materialien über die Immunisierung gegen Milzbrand nach *Besredka*. Prakticeskaja veterinarija i konevodstvo 1927, H. 12, S. 32—33. (Russisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1928.)
- (15) *Nevodov*: Die Cutivaccination und Cutiimmunität bei Milzbrand. Prakticeskaja veterinarija i konevodstvo 1926, H. 5/6, S. 26—42. (Russisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1927.)
- (16) *Tatin et Velu*: La vaccination du cheval contre le charbon bactérien par la voie intradermique en un temps. Compt. rend. soc. biol. 1926, Bd. 94. — La vaccination du cheval contre le charbon bactérien par voie intradermique en un temps, au Maroc. Rev. vétérin. milit. 1926, Bd. 10, H. 2, S. 173—174. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1927.)
- (17) *Donatien, Lestoquard, Rampon et Hilbert*: Immunisation des bovidés contre la fièvre charbonneuse. Arch. de l'Institut Pasteur d'Algérie 1927, Bd. 5, Nr. 1, S. 38—40. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1928.)
- (18) *Soutz*: Séro-vaccination anticharbonneuse intradermique chez le cheval. Arch. vétér. 1926, Bd. 19, H. 1/2, S. 1—3. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1927.)

Diese Richtlinien haben sich aus den Erfahrungen bei den Laboratoriumsarbeiten und denen der Praxis ergeben. Sie sind praktisch durchführbar. Ihre Befolgung ermöglicht es dem erfahrenen Bakteriologen, Impfstoffe herzustellen, die den Erfordernissen in der Praxis genügen und bei richtiger Anwendungsweise unangenehme Zwischenfälle bei der Impfung vermeiden lassen, die auf Konto der Impfstoffe zu buchen wären.

Literatur

- (1) *Besredka*: Vaccination par voie cutanée. Charbon: anti-infection, anti-vaccination, anti-immunité. Annales de l'Institut Pasteur 1921. — Vaccination contre le charbon par voie cutanée. Compt. rend. soc. biol. 1920, Bd. 83. — Immunité générale par Immunisation générale. Bull. Pasteur 1922, 1924. — Rôle de la peau dans l'immunité naturelle au cours des infections et dans l'immunité acquise. Bull. Pasteur 1925.
- (2) *Ballano*: Sur la cuti-immunisation anticharbonneuse chez les cobayes. Compt. rend. soc. biol. 1922, Bd. 87. — Sur la cuti-infection chez les lapins et les cobayes. Compt. rend. soc. biol. 1922, Bd. 87. — L'infection charbonneuse et l'immunité anticharbonneuse chez les lapins et les cobayes. Annales de l'Institut Pasteur 1922.
- (3) *Solovieff*: De la cuti-immunisation du cobaye contre le charbon par le procédé de *Besredka* au moyen des vaccins *Cienkovsky*. Annales de l'Institut Pasteur 1928.
- (4) *Plotz*: Rôle de la peau dans l'infection et l'immunité charbonneuse. Annales de l'Institut Pasteur 1924, S. 169.
- (5) *Rossi*: De la cuti-vaccination du cobaye contre le charbon au moyen du premier vaccin seul. Compt. rend. soc. biol. 1926, Bd. 95, S. 1138. — *Urbain et Rossi*: Vaccination du lapin contre le charbon par le liquide d'œdème. Compt. rend. soc. biol. 1927, Bd. 96, Nr. 9, S. 599—600.
- (6) *Glusman*: Negative Resultate bei Immunisierung von Meerschweinchen gegen Milzbrand nach der Methode von *Besredka*. Zeitschr. f. Hyg. 1924, Bd. 102.
- (7) *Katzu*: Versuche über die Infektionsfähigkeit des Milzbrandbacillus. Zentralbl. f. Bakt. 1925, Bd. 109.
- (8) *Wigotschikoff*: Die Hautvaccination gegen Milzbrand. Zeitschr. f. Immunitätsforschung 1925, Bd. 42.
- (9) *Tada*: Ist die Milzbrandimmunität an das Hautorgan gebunden? Zentralbl. f. Bakt. 1924, Bd. 91.

- (10) *Bautz und Amiraslanoff*: Über die Hantinfektion und Hautimmunität bei Milzbrand. Zeitschr. f. Immunitätsforschung 1928, Bd. 56.
- (11) *Velu*: Rapidité de l'immunisation du monton contre le charbon bactérien par intradermo-vaccinatin en un temps etc. Bull. soc. path. exot. 1924, Bd. 17. — Essai concluant d'intradermo-vaccination contre le charbon bactérien en milieu profondément infecté. Bull. soc. path. exot. 1924, Bd. 17. — Intradermo-vaccination en un temps contre le charbon bactérien. (Recherches expérimentales. Résultats pratiques.) Rev. vétérin. milit. 1926, Bd. 10, H. 4, S. 377—414. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1927.) — Essai d'intradermo-vaccination du mouton contre le charbon. Compt. rend. soc. biol. 1924, Bd. 90, S. 746. — Vaccination contre le charbon bactérien par inoculation intradermique en un temps. Annales de l'Institut Pasteur 1927, Bd. 41.
- (12) *Aliara*. Sulla durata dell'immunità negli ovini sottoposti alla vaccinazione unica intradermica contro il carbonchio ematico. Nuova vet. 1929, 7, 157—159. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1930.)
- (13) *Monod et Velu*: L'intradermovaccination en un temps contre le charbon bactérien et ses avantages. Compt. rend. soc. biol. 1925, Bd. 92, S. 251. — La vaccination intradermique contre le charbon bactérien, au Maroc, d'après les résultats pratiques. Rev. vétérin. milit. 1926, Bd. 10, H. 2, S. 165—172. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1927.)
- (14) *Elmanov*: Zur Frage über die Schutzimpfungen beim Milzbrand. Prakticeskaja veterinarija i konevodstvo 1927, H. 6, S. 43—48. (Russisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1928.) — Zu den Materialien über die Immunisierung gegen Milzbrand nach *Besredka*. Prakticeskaja veterinarija i konevodstvo 1927, H. 12, S. 32—33. (Russisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1928.)
- (15) *Nevodov*. Die Cutivaccination und Cutiimmunität bei Milzbrand. Prakticeskaja veterinarija i konevodstvo 1926, H. 5/6, S. 26—42 (Russisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1927.)
- (16) *Tatin et Velu*: La vaccination du cheval contre le charbon bactérien par la voie intradermique en un temps. Compt. rend. soc. biol. 1926, Bd. 94. — La vaccination du cheval contre le charbon bactérien par voie intradermique en un temps, au Maroc. Rev. vétérin. milit. 1926, Bd. 10, H. 2, S. 173—174 (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1927.)
- (17) *Donatien, Lestoquard, Rampon et Hulbert*: Immunisation des bovidés contre la fièvre charbonneuse. Arch. de l'Institut Pasteur d'Algérie 1927, Bd. 5, Nr. 1, S. 38—40. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1928.)
- (18) *Soutuz*: Séro-vaccination anticharbonneuse intradermique chez le cheval. Arch. vétér. 1926, Bd. 19, H. 1/2, S. 1—3. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1927.)

- (10) *Cernaianu*: Neues in der Pathogenie und Prophylaxe des Milzbrandes. Bul. dir. gen. zootechn., Jahrg. 13, 1927, II. 11/12, S. 73—85. (Rumänisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schütz*, Jahresber. 1930.) — Vaccination intradermique contre le charbon bactéridien. Compt. rend. soc. biol. 1928, Bd. 98. — Die Pathogenese des Milzbrandes und die Milzbrandeschutzimpfungen im Lichte der neuesten Forschungen sowie die Erfahrungen mit der Cutivaccination in Bessarabien. Berliner Tierärztl. Wschr. 1928, II. 28, S. 405—409.
- (20) *Nicolas*: Intradermo-vaccination, contre le charbon bactéridien, de 8912 chevaux et mulets de l'armée du levant. Compt. rend. soc. biol. 1925, Bd. 92. — Intradermo-vaccination anticharbonneuse en deux temps des chevaux et mulets de l'armée française du levant, en 1925. Compt. rend. soc. biol. 1926, Bd. 94. — Intradermo-vaccination anticharbonneuse en deux temps des chevaux et mulets de l'armée française du levant en 1925. (Soc. centr. de méd. vétérin., Allort, 4. III. 1926.) Recueil de méd. vétérin. 1926, Bd. 102, Nr. 6, S. 134—135. (Ref.: *Ellenberger-Schütz*, Jahresber. 1927.)
- (21) *Nevodoff*: Des vaccinations anticharbonneuses en masse, d'après le procédé de *Besredka*, par la voie intracutanée. Compt. rend. soc. biol. 1926, Bd. 94, Nr. 3, S. 170—171. — *Nevodoff*, *Weintrob*, *Pinous*, *Wladimirski*, *Anfiloff* et *Froloff*: De la cutivaccination et de la cuti-immunité dans le charbon. Annales de l'Institut Pasteur 1925.
- (22) *Dauvois*: Innocuité de la vaccination intradermique en un temps contre la fièvre charbonneuse. Rev. gén. méd. vét. 1928, Bd. 37, Nr. 434, S. 68—72. (Ref.: *Ellenberger-Schütz*, Jahresber. 1929.)
- (23) *Ekrem*: Vaccination intradermique anticharbonneuse et vaccination sous-cutanée. Etude comparée de l'immunité conférée. Bull. Acad. vét. France 1928, 1, 331—338. (Ref.: *Ellenberger-Schütz*, Jahresber. 1929.) — Intradermalvaccination bei Ziegen mit Milzbrandvaccin. Baytarimecmua 1928, Nr. 5/6. (Türkisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schütz*, Jahresber. 1929.)
- (24) *Quinn*: Studies on anthrax immunity. 15. Annual Rep. Dir. vet. Serv. S. Africa 1929, 1, 1929—182. (Ref.: *Ellenberger-Schütz*, Jahresber.)
- (25) *Kudrjauzev*: Dio Experimento der Hantimmunisation der Schafe gegen Milzbrand. Veterijnarne dilo 1926, Nr. 1, S. 12—18. (Ukrainisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schütz*, Jahresber. 1927.)
- (26) *Brune*, *Renaudon* et *Guyon*: Vaccination anticharbonneuse intradermique en un temps accidents. Rev. gén. méd. vét. 1932, 15. X.
- (27) *Köves* und *Szélyes*: Beitrag zum Wert der Milzbrandimpfungen. Közlemények az összehasonlító életés kortan köréből 1928, 22, 177—193. (Ungarisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1928.) — *Szélyes*: Über die Bedingungen der Wirksamkeit der Vaccineimpfungen gegen Milzbrand. Allatorvosi Lapok 1929, 52, 98—100 und 114—116. (Ungarisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1930.)

- (28) *Hruska*: Recherches expérimentales sur le charbon. I. mém. Les vaccins charbonneux. Annales de l'Institut Pasteur 1925, S. 897. — Recherches expérimentales sur le charbon. II. Hyperimmunisation, Titration de l'antisérum et séro-vaccination. Annales de l'Institut Pasteur 1926, S. 710. — Beitrag zum Studium der Milzbrand-Infektion. Zeitschr. f. Immunitätsforschung 1928, Bd. 56.
- (29) *Roman*: Über die Schutzimpfungen gegen Milzbrand und ihre Erfolge und Mißerfolge. Jugosl. Vet. Glasnik, Bd. 3, S. 44—47.
- (30) *Eichhorn*: New phases in the control of anthrax through vaccination. Journ. of Am. Vet. Med. Ass. 1925, Bd. 68. — *Eichhorn und Kelser*. Versuche über Impfung gegen Milzbrand. Ref.: Zentralbl. f. Bakt. 1918, Bd. 66.
- (31) *Nitta*: Die Milzbrandschutzimpfung in Japan. Ref.: Zentralbl. f. Bakt. 1914, Bd. 59, S. 679.
- (32) *Belfanti*: La vaccinazione contro il carbonchio ematico col vaccino carbozoo (metodo Mazzucchi). Clin. vet. 1929, 52, 331—338. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1930.)
- (33) *Richmann und Joseph*: Beitrag zur Bekämpfung des Milzbrandes unter besonderer Berücksichtigung der Prüfung von Impfstoffen. Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere 1913, Bd. 13, S. 402.
- (34) *Negro*: zitiert nach *Kolle-Krauss-Uhlenhuth*, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. III, 2
- (35) *Marios*: Infektionsversuche mit einzelnen „tierischen“ Milzbrand-bacillen. Zeitschr. f. Hyg. 1927, Bd. 107.
- (36) *Nagasawa*: Superinfektion und Depressionsimmunität. Zeitschr. f. Immunitätsforschung 1921, I.
- (37) *Bekker*: The relation of the virulence of a attenuated anthrax strain, to their immunizing value. 16. Annual Rep. Dir. vet. Serv. S. Africa 1929, 1, 183—191. (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1930.)
- (38) *Geoffroy*: Le charbon bactérien à Madagascar. Rec. Méd. vét. exot. 1930, 3, 122—124.
- (39) *Vekhorckij und Kosarev*: Die Einwirkung der aktiven Reaktion des Nährbodens auf die biologischen Eigenschaften des Anthraxbazillus. Trudy gosud. Inst. exper. Vet. 1928, 5, 127—156. (Russisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1930.)
- (40) *Harnack*: Sur la perte de la colorabilité des gaines de la bactérie charbonneuse. Compt. rend. soc. biol. 1926, Bd. 95.
- (41) *Descarreaux*: Contrôle des vaccins anticharbonneux. Rev. d'Hyg. et de méd. prév. 1927, Bd. 49.

- (42) *Marino*: Immunisation du cobaye contre le charbon et questions relatives à l'immunité anticharbonneuse. *Compt. rend. soc. biol.* 1922, Bd. 80; *Journ. de physiol. et de pathol. génér.* 1924, Bd. 22.
- (43) *Wernicke*: Beitrag zur Kenntnis der Milzbrandimmunität. *Deutsche med. Wschr.* 1914.
- (44) *Cordier*: Essais de anti-vaccinations contre la fièvre charbonneuse. Résultats comparatifs de différentes méthodes. *Compt. rend. soc. biol.* 1925, Bd. 92.
- (45) *Menotti*: Sulla vaccinazione anticarbonchiosa. *Ann. Igien.* 1928, Bd. 38.
- (46) *Stoicescu*: Die vaccinale Immunität gegen Milzbrand. *Bul. dir. gen. zootechn.* 1929, Nr. 1/3, S. 351—398. (Rumänisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schütz*, Jahresber. 1927.) — Untersuchungen und Riebtlinien für die Intradermovaccination gegen Milzbrand. *Bul. dir. gen. zootechn.* 1928, 14, 258—271. (Rumänisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schütz*, Jahresber. 1929.) — Sur la vaccination anticharbonneuse par voie intradermique. *Compt. rend. soc. biol.* 1929, Bd. 95, Nr. 38, S. 1579—1589.
- (47) *Neri*: Sull'azione patogena di *Bacillus anthrax* etc. *L'igien. moderna* 1924. (Ref.: *Ellenberger-Schütz*, Jahresber.)
- (48) *Huber*: Die Cutisvaccinierung bei Milzbrand. *Niederl. Ind. Bl. v. diergeneesk.* 1927, Bd. 39, S. 177—193 (Holländisch).
- (49) *Rubinskij*: Zum Artikel *A. P. Nevodovs* „Experimentelle Prüfung der Immunität gegen Milzbrand bei Pferden usw.“ *Vestnik sovremennoj veterinarii* 1927, Nr. 11. *Vestnik sovremennoj veterinarii* 1927, Nr. 24, S. 748—749. (Russisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schütz*, Jahresber. 1928.)
- (50) *Ruppert*: Die Wichtigkeit der Keimzahl in Milzbrandimpfstoffen und die Wirkung der Eiweiße bei der Immunisierung gegen Milzbrand. *Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere* 1927, Bd. 31. — *Ruppert und Andrien*: Grundlagen für die staatliche Kontrolle von Milzbrandimpfstoffen. *Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere* 1927, Bd. 31.
- (51) *Sobernheim*: Milzbrand. *Handbuch der pathol. Mikroorganismen von Kolle-Krauss-Uhlenhuth*, Bd. III, 2. — *Sobernheim und Murata*: Vergleichende Untersuchungen über die Bedeutung des Infektionsmodus bei der experimentellen Milzbrandinfektion. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.* 1924, Bd. 103, H. 4, S. 691—698.
- (52) *Lasslo*: Über die intrakutane Schutzimpfung gegen Milzbrand. *Allatorvosi Lapok* 1930, 53, 60—63. (Ungarisch.) (Ref.: *Ellenberger-Schutz*, Jahresber. 1931.)

Zur Chemie der Tuberkelbazillen und des Tuberkulins

DR. FR. LINDNER

Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie A.G.,
Werk Hoechst

Schon in den ersten Arbeiten, in denen *Robert Koch* im Jahre 1890 seine Entdeckung des Tuberkulins mitteilte, hat er auch die Frage nach der chemischen Natur der aktiven Substanzen aufgeworfen. In den mehr als 40 Jahren, die seither verflossen sind, hat diese Frage immer wieder zu neuen Arbeiten und Erklärungsversuchen angeregt, und es gibt kaum ein anderes Gebiet der physiologischen Chemie, auf dem Arbeiten und oft sich widersprechende Anschauungen und Theorien so üppig aufgeschossen sind.

Wenn wir auch heute noch von einer endgültigen Klärung aller Fragen weit entfernt sind, so ermöglichen es doch die Arbeiten der letzten Jahre, einige Wege durch dieses Dickicht zu finden, die dem endgültigen Ziele zustreben, und diese Wege sollen im folgenden aufgezeigt werden.

Robert Koch ging bei seinen klassischen Tuberkulosearbeiten von der Beobachtung aus, daß eine überstandene Tuberkelinfektion eine Umstimmung des Organismus hervorruft, so daß eine neue Infektion zwar an der Impfstelle eine typische Reaktion verursacht, aber nicht mehr zu einer neuen Allgemeinerkrankung führt. Es gelang ihm dann, diese typischen Reaktionen auch mit Extrakten aus Tuberkelbazillen zu erhalten und er kam so zu den verschiedenen Tuberkulin-Präparaten, von denen bis heute das Alt-Tuberkulin das Wichtigste geblieben ist. Dieses wird so gewonnen, daß Tuberkelbazillen auf Glycerinbouillon gezüchtet werden, nach 6—8 Wochen langem Wachstum wird die Kultur im strömenden Wasserdampf sterilisiert, auf ein Zehntel ihres Volumens eingengt und von den Bakterienresten abfiltriert. Neben das Alt-Tuberkulin traten später

nech eine Reihe von anderen Präparaten, z. B. das sogenannte albumosefreie Tuberkulin A. F., das ebenso wie das Alt-Tuberkulin, nur unter Benutzung synthetischer Nährböden, hergestellt wird, und die Neu-Tuberkuline, die aus den Bakterienleibern gewonnen werden.

Für die Anwendung der Tuberkulin-Präparate zu therapeutischen und diagnostischen Zwecken, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann, ist es natürlich von Wichtigkeit, daß man stets mit Präparaten von gleicher Wirksamkeit arbeiten kann, daß also die Präparate „standardisiert“ werden. Man hat dazu eine Reihe von verschiedenen Verfahren ausgearbeitet, von denen hier nur die drei wichtigsten angeführt seien, nämlich die subkutane, die intrakutane und die serologische Auswertungsmethode.

Die beiden ersten Verfahren beruhen auf der schon erwähnten Eigenschaft der Tuberkulin-Präparate, daß sie nur beim tuberkulosekranken Tier Reaktionen geben, beim gesunden aber in nicht allzu großen Dosen indifferent sind. *Robert Koch* selbst hat zur Auswertung die Bestimmung der Menge eines Präparates benutzt, die eben genügt, um ein 3—4 Wochen vorher mit Tuberkelbazillen infiziertes Meerschweinchen bei subkutaner Einspritzung in einer bestimmten Zeit und unter den für den Tuberkulintod charakteristischen Erscheinungen zu töten.

Man hat weiter zur Auswertung die Reaktionen herangezogen, die bei der Injektion von Tuberkulin in die Haut des tuberkulösen Meerschweinchens auftreten. Bei dieser „intrakutanen Methode“ spritzt man in die Haut eines Tieres auf der einen Seite ein Standardpräparat, auf der anderen Seite das zu untersuchende Präparat. Die Stärke der nach 24—48 Stunden auftretenden Impfpapeln gestattet einen Rückschluß auf die Stärke des untersuchten Präparates.

Bei beiden Auswertungen sind selbstverständlich eine Reihe von Kautelen zu beachten, worauf neuerdings wieder mehrmals hingewiesen wurde (*Calmette, Küster*). Schließlich hat man

versucht, eine Auswertung im Reagensglas mit Hilfe eines Serums vorzunehmen, das durch Behandeln von Tieren mit lebenden oder toten Bazillen erhalten wird. Ein solches Serum enthält präzipitierende und komplementbindende Antikörper, die mit Tuberkulin reagieren.

Man hatte nun früher angenommen, daß bei allen diesen Auswertungsmethoden ein und derselbe Stoff das wirksame Agens darstelle. Diese Annahme, die sich als falsch erwiesen hat, gibt eine Erklärung für viele Widersprüche in der älteren Literatur.

Ein weiterer Punkt, der bei den älteren Arbeiten zu wenig beachtet wurde, ist die Wahl des Ausgangsmaterials für die chemische Untersuchung. Man hat früher irgendein Tuberkulin-Präparat, etwa das Alt-Tuberkulin oder verschieden hergestellte Extrakte aus Tuberkelbazillen als Ausgangsmaterial verwendet und hat daraus mit allen möglichen Reinigungsmethoden die wirksame Substanz zu isolieren versucht. Dabei kamen nun die einzelnen Forscher je nach dem gewählten Ausgangsmaterial und den teils wenig schonenden Bedingungen der Aufarbeitung zu sehr verschiedenen Ansichten über die Natur, insbesondere auch über die Molekulargröße der wirksamen Substanzen.

Es ist leicht erklärlich, daß bei der außerordentlich komplexen Natur der Tuberkulin-Präparate — das Alt-Tuberkulin z.B. enthält neben Glycerin und den Bestandteilen der Nährbouillon sämtliche Stoffwechselprodukte und beim Aufkochen lösliche Extraktivstoffe des Tuberkelbazillus — die Aussichten für die Isolierung reiner Wirkstoffe sehr schlecht waren.

Man hat sich daher in neuerer Zeit die Aufgabe gestellt, die einzelnen Substanzen, die am Aufbau des Tuberkelbazillus bzw. seiner Stoffwechselprodukte beteiligt sind, in möglichst genuiner Form zu fassen und dann chemisch und physiologisch näher zu untersuchen.

Nach diesem Grundsatz arbeitet in Amerika seit einer Reihe von Jahren eine ganze Anzahl von Forschern, die sich unter größt-
zügigster Mitwirkung der staatlichen Stellen und der Industrie

noch eine Reihe von anderen Präparaten, z. B. das sogenannte albumosefreie Tuberkulin A. F., das ebenso wie das Alt-Tuberkulin, nur unter Benutzung synthetischer Nährböden, hergestellt wird, und die Neu-Tuberkuline, die aus den Bakterienleibern gewonnen werden.

Für die Anwendung der Tuberkulin-Präparate zu therapeutischen und diagnostischen Zwecken, auf die hier nicht näher eingegangen worden kann, ist es natürlich von Wichtigkeit, daß man stets mit Präparaten von gleicher Wirksamkeit arbeiten kann, daß also die Präparate „standardisiert“ werden. Man hat dazu eine Reihe von verschiedenen Verfahren ausgearbeitet, von denen hier nur die drei wichtigsten angeführt seien, nämlich die subkutane, die intrakutane und die serologische Auswertungsmethode.

Die beiden ersten Verfahren beruhen auf der schon erwähnten Eigenschaft der Tuberkulin-Präparate, daß sie nur beim tuberkulosekranken Tier Reaktionen geben, beim gesunden aber in nicht allzu großen Dosen indifferent sind. *Robert Koch* selbst hat zur Auswertung die Bestimmung der Menge eines Präparates benutzt, die eben genügt, um ein 3—4 Wochen vorher mit Tuberkelbazillen infiziertes Meerschweinchen bei subkutaner Einspritzung in einer bestimmten Zeit und unter den für den Tuberkulintod charakteristischen Erscheinungen zu töten.

Man hat weiter zur Auswertung die Reaktionen herangezogen, die bei der Injektion von Tuberkulin in die Haut des tuberkulösen Meerschweinchens auftreten. Bei dieser „intrakutanen Methode“ spritzt man in die Haut eines Tieres auf der einen Seite ein Standardpräparat, auf der anderen Seite das zu untersuchende Präparat. Die Stärke der nach 24—48 Stunden auftretenden Impfpapeln gestattet einen Rückschluß auf die Stärke des untersuchten Präparates.

Bei beiden Auswertungen sind selbstverständlich eine Reihe von Kautelen zu beachten, worauf neuerdings wieder mehrmals hingewiesen wurde (*Calmette, Küster*). Schließlich hat man

versucht, eine Auswertung im Reagensglas mit Hilfe eines Serums vorzunehmen, das durch Behandeln von Tieren mit lebenden oder toten Bazillen erhalten wird. Ein solches Serum enthält präzipitierende und komplementbindende Antikörper, die mit Tuberkulin reagieren.

Man hatte nun früher angenommen, daß bei allen diesen Auswertungsmethoden ein und derselbe Stoff das wirksame Agens darstelle. Diese Annahme, die sich als falsch erwiesen hat, gibt eine Erklärung für viele Widersprüche in der älteren Literatur.

Ein weiterer Punkt, der bei den älteren Arbeiten zu wenig beachtet wurde, ist die Wahl des Ausgangsmaterials für die chemische Untersuchung. Man hat früher irgendein Tuberkulin-Präparat, etwa das Alt-Tuberkulin oder verschieden hergestellte Extrakte aus Tuberkelbazillen als Ausgangsmaterial verwendet und hat daraus mit allen möglichen Reinigungsmethoden die wirksame Substanz zu isolieren versucht. Dabei kamen nun die einzelnen Forscher je nach dem gewählten Ausgangsmaterial und den teils wenig schonenden Bedingungen der Aufarbeitung zu sehr verschiedenen Ansichten über die Natur, insbesondere auch über die Molekulargröße der wirksamen Substanzen.

Es ist leicht erklärlich, daß bei der außerordentlich komplexen Natur der Tuberkulin-Präparate — das Alt-Tuberkulin z.B. enthält neben Glycerin und den Bestandteilen der Nährbouillon sämtliche Stoffwechselprodukte und beim Aufkochen lösliche Extraktivstoffe des Tuberkelbazillus — die Aussichten für die Isolierung reiner Wirkstoffe sehr schlecht waren.

Man hat sich daher in neuerer Zeit die Aufgabe gestellt, die einzelnen Substanzen, die am Aufbau des Tuberkelbazillus bzw. seiner Stoffwechselprodukte beteiligt sind, in möglichst genuiner Form zu fassen und dann chemisch und physiologisch näher zu untersuchen.

Nach diesem Grundsatz arbeitet in Amerika seit einer Reihe von Jahren eine ganze Anzahl von Forschern, die sich unter größt-
zügigster Mitwirkung der staatlichen Stellen und der Industrie

zu gemeinsamer Arbeit nach einem genau ausgearbeiteten Plan zusammengeschlossen haben. Auch bei den Arbeiten unseres Laboratoriums wie auch in anderen Instituten in Deutschland sind diese Gesichtspunkte berücksichtigt worden.

Man züchtet also die Tuberkelbazillen für die wissenschaftliche Untersuchung auf einem möglichst einfach zusammengesetzten Nährboden, und es ist immer wieder erstaunlich, welche Fülle von komplizierten Substanzen dieser Mikroorganismus aus einer Nährflüssigkeit aufbauen kann, die neben anorganischen Salzen nur Glycerin, Asparagin und Natriumcitrat enthält.

In der Kulturflüssigkeit findet man nach mehrwöchiger Bebrütung neben anderen Substanzen Eiweiß, Kohlenhydrat, Farbstoffe und Purinderivate, sie zeigt dann starke Tuberkulin-Wirkung.

Der Tuberkelbazillus selbst ist gekennzeichnet durch seinen hohen Lipidgehalt, der bei den einzelnen Typen wechselt und bis zu einem Viertel des Trockengewichtes erreicht. Die Lipidhülle, die jede einzelne Zelle umgibt, bewirkt bekanntlich die hohe Widerstandsfähigkeit der „säurefesten Bakterien“. Es ist in diesem Zusammenhang von Interesse, daß man schon nach Zusammenhängen zwischen Tuberkulose und Lipasegehalt des Blutes gesucht und auch an die therapeutische Behandlung mit Lipasepräparaten gedacht hat.

Wenn man die Lipidhülle mit organischen Lösungsmitteln entfernt hat, lassen sich aus den Bakterien eine Reihe weiterer Substanzen extrahieren, nämlich neben Salzen und anderen Stoffen, die noch nicht näher untersucht sind, erstens eine Nucleinsäure, zweitens Substanzen von Kohlenhydratnatur und endlich eine Reihe von mehr oder weniger definierten Eiweißkörpern.

Es hat sich herausgestellt, daß Stoffe aus allen diesen Körperklassen physiologische Wirksamkeit besitzen und damit hat sich jedenfalls der Grundgedanke der Lehre *Muchs* von den Partialantigenen bestätigt, daß nämlich die Krankheitserreger eine

Reihe von chemisch verschiedenen „Antigenen“ enthalten, deren jedes eine bestimmte Rolle im Krankheitsverlauf und bei der therapeutischen Behandlung spielen kann.

Die Lipide des Tuberkelbazillus sind viel bearbeitet worden, seitdem *Déycke* und *Much* die sogenannte Fettwachs- und die Neutralfettfraktion als Partialantigene zur Behandlung der Tuberkulose herangezogen und *Boquet* und *Niègre* über günstige Heilerfolge mit einem Methylalkoholextrakt aus Tuberkelbazillen berichtet haben.

Nach den neuen Arbeiten von *Anderson* und seinen Mitarbeitern wird das Lipoidgemisch aufgeteilt in eine Phosphatid-, eine Neutralfett- und eine Wachsfraktion.

Besonderes Interesse bietet das Phosphatid, das charakteristische biologische Eigenschaften aufweist, indem es nämlich im normalen Organismus typisches tuberkulöses Gewebe erzeugen kann. Zu seinen Bausteinen gehören neben Palmitin- und Ölsäure zwei neue Fettsäuren, die übrigens auch in den anderen Lipoidfraktionen vorkommen. Es sind dies ein flüssiges Isomeres der Stearinsäure, die Tuberkulostearinsäure, und eine optisch aktive Fettsäure mit 26 C-Atomen, die *Anderson* Phthionsäure benannt hat. Ferner enthält das Phosphatid ein Kohlenhydrat, das aus Inosit, Mannose und einer noch unbekannten Hexose aufgebaut ist.

Das Neutralfett des Tuberkelbazillus ist nach *Anderson* nicht ein Glycerid, sondern ein komplexer Ester von Fettsäuren mit Trehalose.

Die Wachsfraktion endlich scheint nicht ein echtes Wachs zu sein, sondern ein neuartiger Phosphatidkomplex. Dieser enthält wieder eine Kohlenhydratkomponente, bei deren Spaltung d-Arabinose, Mannose und Galaktose entstehen.

Die Nucleinsäure des Tuberkelbazillus, die aus dem Nucleoprotein durch Spaltung entsteht, gehört offenbar dem Typus der tierischen Nucleinsäuren an, hat also eine Hexose oder wahrscheinlicher eine Desoxypentose als Zuckerkomponente. Sie hat

in völlig reiner Form keine spezifische Wirksamkeit, während das Nucleoproteid und auch nicht ganz eiweißfreie Nucleinsäurepräparate sehr stark die Tuberkulin-Hautreaktion zeigen.

Daß Stoffe aus der Kohlenhydratgruppe am Aufbau des Tuberkelbazillus beteiligt sind, ist schon lange bekannt, man hatte ihnen aber nur die Rolle einer Kittsubstanz zugeschrieben. Erst die grundlegenden Beobachtungen von *Heidelberger* über die spezifischen Gonokokken-Kohlenhydrate haben die Aufmerksamkeit auch hier auf diese Körperklasse gelenkt. Die früheren Arbeiten über die Polysaccharide des Tuberkelbazillus, besonders von *Zinsser* und *Müller* sowie *Laidlaw* und *Dudley*, enthalten mancho Widersprüche, die durch eine neuere Arbeit von *Heidelberger* erklärt werden. Danach lassen sich nämlich sowohl aus Tuberkelbazillen als auch aus der Kulturflüssigkeit mehrere Kohlenhydrate isolieren, die sich in ihrem chemischen und physiologischen Verhalten unterscheiden. Das eine mit hoher spezifischer Drehung, das schwach saure Natur hat, scheint für die ganze Gruppe, also auch für bovine und Hühnertuberkelbazillen, charakteristisch zu sein. Es liefert bei der Hydrolyse d-Arachinose und Mannose.

Ein zweites, schwach saures Polysaccharid mit niedriger spezifischer Drehung, das bei der Hydrolyse bis jetzt nur d-Arachinose ergab, scheint nur in humanen Bazillen vorzukommen. Diese beiden Kohlenhydrate wirken als Haptene und sind wohl als die Hauptträger der spezifischen Präzipitationen anzusprechen, werden also bei der erwähnten serologischen Auswertung von Tuberkulin-Präparaten erfaßt. Dagegen haben sie mit der spezifischen Hautreaktion sicher nichts zu tun, wie weit sie bei der Toxizität mancher Tuberkulin-Präparate mitspielen, ist noch nicht sichergestellt.

Die Eiweißkörper der Tuberkulinbazillen wird man auf Grund der neueren Arbeiten von *Dienes*, *Coyhill*, *Johnson* u. a. einteilen in wasserlösliche Eiweißkörper vom Globulin- und Albumincharakter, alkalilösliche Eiweißkörper — in diese Fraktion

gehören auch die Nucleoproteide — und endlich in unlösliche Eiweißkomplexe, die nach der erschöpfenden Extraktion verbleiben und die übrigens interessanterweise nach Versuchen unserer bakteriologischen Abteilung bei peroraler Verabreichung an Kälbern immunisierend wirken.

Über den chemischen Aufbau aller dieser Eiweißfraktionen ist noch wenig bekannt, auffallend ist bei allen löslichen Vertretern der hohe Gehalt an den Hexonbasen Arginin, Lysin und Histidin.

Außer aus den Bakterien selbst hat man Eiweißkörper auch aus den Kulturfiltraten dargestellt. Es wurde schon erwähnt, daß sich in dem ursprünglich eiweißfreien Nährboden nach mehrwöchigem Bakterienwachstum Eiweiß nachweisen läßt. Es ist wahrscheinlich, daß diese Eiweißkörper ähnlich wie die echten Toxine von den lebenden Bakterien ausgeschieden werden, möglich ist aber auch, daß sie durch den Zerfall von Bakterienleibern entstehen.

Seibert konnte eine Albuminfraktion aus diesen Eiweißkörpern in kristallisierter Form erhalten, womit zum erstenmal die Kristallisation eines Bakterieneiweißes gelungen ist.

Alle die Eiweißfraktionen aus den Bakterienleibern sowohl als auch aus der Kulturflüssigkeit zeigen nun in mehr oder weniger hohem Maße spezifische Tuberkulin-Wirkung, d. h. sie geben positive Reaktionen beim Intrakutan- und beim Subkutanversuch. Weit aus die stärksten Präparate sind die aus den Kulturfiltraten gewonnenen, und *Long* und *Seibert* waren dementsprechend auch zu dem Schluß gekommen, daß die Träger der Wirksamkeit der Tuberkulin-Präparate eben diese Eiweißkörper seien. Im scharfen Gegensatz dazu stehen Beobachtungen von *Lautenschlager* und *Bieling* aus unseren Instituten, wie auch von anderen Autoren, die wirksame Tuberkulin-Präparate in Händen hatten, welche nach Molekulargröße und sonstigen Eigenschaften keine Eiweißkörper mehr sein konnten.

Ohne auf allzu viele Einzelheiten einzugehen, soll im folgenden versucht werden, auf Grund eigener Versuchsergebnisse wie

in völlig reiner Form keine spezifische Wirksamkeit, während das Nucleoproteid und auch nicht ganz eiweißfreie Nueleinsäurepräparate sehr stark die Tuberkulin-Hautreaktion zeigen.

Daß Stoffe aus der Kohlenhydratgruppe am Aufbau des Tuberkelbazillus beteiligt sind, ist schon lange bekannt, man hatte ihnen aber nur die Rolle einer Kittsubstanz zugeschrieben. Erst die grundlegenden Beobachtungen von *Heidelberg* über die spezifischen Gonokokken-Kohlenhydrate haben die Aufmerksamkeit auch hier auf diese Körperklasse gelenkt. Die früheren Arbeiten über die Polysaccharide des Tuberkelbazillus, besonders von *Zinsser* und *Müller* sowie *Laidlaw* und *Dudley*, enthalten manche Widersprüche, die durch eine neuere Arbeit von *Heidelberg* erklärt werden. Danach lassen sich nämlich sowohl aus Tuberkelbazillen als auch aus der Kulturflüssigkeit mehrere Kohlenhydrate isolieren, die sich in ihrem chemischen und physiologischen Verhalten unterscheiden. Das eine mit hoher spezifischer Drehung, das schwach saure Natur hat, scheint für die ganze Gruppe, also auch für bovine und Hühnertuberkelbazillen, charakteristisch zu sein. Es liefert bei der Hydrolyse d-Arabinose und Mannose.

Ein zweites, schwach saures Polysaccharid mit niedriger spezifischer Drehung, das bei der Hydrolyse bis jetzt nur d-Arabinose ergab, scheint nur in humanen Bazillen vorzukommen. Diese beiden Kohlenhydrate wirken als Haptene und sind wohl als die Hauptträger der spezifischen Präzipitationen anzusprechen, werden also bei der erwähnten serologischen Auswertung von Tuberkulin-Präparaten erfaßt. Dagegen haben sie mit der spezifischen Hautreaktion sicher nichts zu tun, wie weit sie bei der Toxizität mancher Tuberkulin-Präparate mitspielen, ist noch nicht sichergestellt.

Die Eiweißkörper der Tuberkulinbazillen wird man auf Grund der neueren Arbeiten von *Dienes*, *Coyhill*, *Johnson* u. a. einteilen in wasserlösliche Eiweißkörper vom Globulin- und Albumincharakter, alkalilösliche Eiweißkörper — in diese Fraktion

Durch verhältnismäßig milde Einwirkungen, z. B. schon durch Erhitzen oder Einengen, werden aus diesen Komplexen einerseits Kohlenhydrate abgespalten, andererseits auch Polypeptidketten, die also jetzt dialysabel sind und die beide für tuberkulöse Meerschweinchen toxisch sein können; wir hatten jedenfalls wirksame Präparate aus beiden Körperklassen in Händen.

Das verbleibende Eiweißmolekül, das immer noch auch Kohlenhydratgruppen enthält, zeigt noch die Wirkung im Intrakutanversuch. Durch weitere Einwirkung hydrolysierender Agenzien kann nun auch dieses Molekül weiter verkleinert werden, ohne daß die Wirksamkeit verschwindet. Man kann so zu Substanzen etwa vom Molekulargewicht 1000—2400 kommen, die also z. B. durch weniger dichte Kollodiummembranen diffundieren und die noch die Hautreaktion zeigen.

Daß die Kohlenhydratgruppe weder für die subkutane noch für die intrakutane Wirkung unerlässlich ist, geht daraus hervor, daß wir sehr starke Präparate beider Reihen in Händen hatten, die keine Kohlenhydratreaktion mehr gaben.

Überhaupt hat man trotz vielen Snehens danach noch keine Anhaltspunkte dafür gefunden, daß bestimmte eiweißfremde prosthetische Gruppen die letzten Träger der Tuberkulin-Wirkungen sind. Es scheint viel eher, daß die Erklärung der Wirksamkeit eine ähnliche sein wird, wie sie *Haurowitz* kürzlich für Antigene und Antikörper gegeben hat. Danach wären es bestimmte konfigurative Gruppierungen der gewöhnlichen Eiweiß-Bausteine, die die biologische Aktivität bedingen.

Man hat versucht, die geschilderten Erkenntnisse auch praktisch zu verwerten, indem man hochgereinigte Tuberkulin-Fractionen für Diagnose und Therapie verwendet. Inwieweit damit Fortschritte zu erzielen sind, muß die Zukunft lehren, bis jetzt hat es doch den Anschein, als sollte das Alt-Tuberkulin, das wir allerdings auf Grund der neuen Erkenntnisse nach allen Richtungen auswerten müssen, seinen Platz behaupten. Für

auch der Arbeiten von *Seibert*, *Dorset*, *Maschmann* u. a. eine Klärung dieser Widersprüche herbeizuführen.

Als der wichtigste Punkt hierzu erscheint die Erkenntnis, daß die verschiedenen typischen Tuberkulin-Reaktionen nicht von einem und demselben Wirkstoff hervorgerufen werden müssen, so daß Ergebnisse, die nach verschiedenen Auswertungsmethoden erhalten wurden, nicht vergleichbar sind.

Es ist oben schon erwähnt worden, daß bei der serologischen Auswertung der Tuberkulin-Präparate Substanzen erfaßt werden, die verschieden sind von den Trägern der Wirkung am Tier im Intrakutan- und Subkutanversuch.

Auch die Intrakutan- und die Subkutanreaktion können von verschiedenen Substanzen hervorgerufen werden. *Dorset*, *Henley* und *Moskey* konnten im Jahre 1927 das Alt-Tuberkulin in zwei Komponenten zerlegen, von denen die eine überwiegend im Intrakutanversuch, die andere im Subkutanversuch wirksam war. Ähnliche Beobachtungen wurden unabhängig davon auch hier gemacht, worauf der Verfasser seinerzeit (1930) in einem Vortrag vor dem Verein deutscher Chemiker hingewiesen hat. Später haben auch *Küster* und *Maschmann* diese Trennung in „Hautstoff“ und „Todstoff“ durchgeführt. Es hat sich gezeigt, daß der „Hautstoff“ höhermolekular ist, während der „Todstoff“ verhältnismäßig leicht, z. B. durch tierische Membranen, dialysiert. Auf Grund dieser Erkenntnisse ergibt sich nun von der Natur der Wirkstoffe im Tuberkulin folgendes Bild, das fast allen Beobachtungen der verschiedenen Autoren gerecht wird: In den Bakterien sowohl wie in den Kulturfiltraten sind primär Komplexe aus Eiweiß und Kohlenhydraten enthalten, die für sämtliche bekannten Tuberkulin-Reaktionen verantwortlich sind. Diese Komplexe lassen sich nach unserer Beobachtung bei sehr schonender Verarbeitung z. B. durch Ultrafiltration ans nicht zu alten Kulturfiltraten unzersetzt fassen, solche Präparate geben also sämtliche Tuberkulin-Reaktionen und lassen auch keinen „Todstoff“ durch das Ultrafilter hindurchgehen.

Über die Reduktion organischer Farbstoffe durch Bakterien und ihre Bedeutung als biologische Nachweisreaktion

DR. H. SCHULTZE

Aus der Sero-bakteriologischen Abtlig „Bayer-Meister Lucius-Behringerwerke“ und dem Institut für Experimentelle Therapie „Emil v. Behring“, Marburg

In seinen grundlegenden Arbeiten über das „Sauerstoffbedürfnis der Zelle“ bedient sich *P. Ehrlich* erstmalig der Reduzierbarkeit organischer Farbstoffe zum Nachweis eines vitalen Prozesses. Seine Versuche geben bereits wertvolle Aufschlüsse über die quantitative Seite des Reduktionsvermögens von Zellen, Geweben und auch Bakterien gegenüber Farbstofflösungen, doch erst durch die in neuere Zeit fallenden Untersuchungen über die Zellfermente und durch den Nachweis stofflicher Veränderungen des Zellmilieus wird der Reduktionsvorgang auch vom Standpunkt der chemischen Affinitätslehre und des chemischen Gleichgewichts verständlich.

Quastel findet bei gut ausgewaschenen Bakterienkulturen das Reduktionsvermögen gegenüber Methylenblau in Abwesenheit von Luftsauerstoff erloschen. Die Reduktion wird aber auf Zusatz von Bernsteinsäure wieder angeregt, wobei sich unter dem aktivierenden Einfluß einer Bakteriendehydrogenase Fumarsäure bildet. In diesem Falle erfolgt der Übergang des Methylenblaus in seine Leukoverbindung in dem Maße, wie Bernsteinsäure zu Fumarsäure dehydriert wird.

Die Aufdeckung dehydrierbarer Substanzen mit Hilfe einer Farbstoff-Reduktionsreaktion ist von erheblichem biologischen Interesse, weil derartige Stoffe zur Bildung von Oxydations-Reduktionssystemen befähigt sind und somit direkt oder nach Aktivierung durch ein Zellferment bestimmte Reduktions-Oxydationspotentiale in der Umgebung der Zellen hervorrufen können. Die Ausbildung eines bestimmten Redoxpotentials ist auch für

seiner therapeutischen Anwendung ist vielleicht ein Befund von Interesse, der hier in Höchst erhoben wurde, daß es nämlich beachtliche Mengen kreislaufwirksamer Substanzen vom Adenosintyp enthält, die sehr wohl seine therapeutische Wirkung mit bedingen können.

Die Chomie der Tuberkelbazillen und des Tuberkulins bietet, wie wir wohl gezeigt haben, ein außerordentlich buntes Bild. Wenn auch die Arbeiten der letzten Jahre über eine Reihe von strittigen Fragen Klarheit gebracht und mancherlei interessante Ergebnisse gezeitigt haben, so bleibt doch der Forschung noch ein gut Stück Weges, um das ferne Ziel einer endgültigen Klärung aller Fragen zu erreichen.

nachgewiesen hat, so ist an der Anregung bzw. Förderung der Methylenhlaureduktion zu erkennen, daß eine Aktivierung der Bernsteinsäure gemäß der *Wieland*sehen Dehydrierungstheorie zum Wasserstoffdonator erfolgt. An der Zurückdrängung bzw. Hemmung der Reaktion auf Zusatz von Fumarsäure ist zu sehen, daß diese Saure zum Wasserstoffakzeptor aktiviert wird. Die durch eine solche Aktivierung zweier Stoffkomponenten ausgelöste gleichzeitige Oxydation und Reduktion kann nun nach *Quastel* als Energiequelle für das Bakterienwachstum dienen, falls während der Umsetzungen ein zum Zellaufbau geeigneter Stoff entsteht.

Für das Wachstum von Colihazillen unter Sauerstoffabschluß scheint die Bildung von Brenztraubensäure als verwertbares Primarsubstrat erforderlich zu sein, denn von den untersuchten Wasserstoffdonatoren sind bei Fumarat als Akzeptor nur solche C-haltigen Verbindungen für eine Kohlenstoffassimilation geeignet, bei denen, wie bei Glycerin oder Laktat, die Entstehung von Brenztraubensäure möglich ist:



Ungeeignet sind dagegen bei Fumarat als Akzeptor Donatoren wie Bernsteinsäure, Essigsäure, Glutaminsäure und Alanin. An Stelle von Fumarat kann Nitrat treten, und es zeigt sich, daß Colibazillen mit Laktat und Nitrat anaërob gedeihen. In diesem Falle dient Laktat als einzige Kohlenstoffquelle und als Wasserstoffdonator, Nitrat als Stickstoffquelle und als Wasserstoffakzeptor, so daß bei der Reaktion



sowohl die energetischen wie die assimilatorischen Bedingungen für eine Bakterienvermehrung erfüllt sind. Dieselbe Reaktion gestattet auch anaërobes Wachstum für Proteushazillen. Wie aber aus den Arbeiten *H. Brauns* über die Ernährungsphysiologie von Bakterien hervorgeht, vermag *Proteus* auch mit Laktat als Wasserstoffdonator und asparaginsauerm Natrium als Wasserstoff-

die Entfaltung der Lebenstätigkeit in einer Bakterienkultur von großer Bedeutung, insbesondere dient das Potentialgefälle zwischen zwei oder mehreren Redoxsystemen als Energiequelle für assimilatorische Leistungen. (*Michaelis*, „Oxydations-Reduktionspotentiale“. Verlag Jul. Springer, 1929.)

Da nun nach Untersuchungen von *Clark* und Mitarbeitern eine große Anzahl organischer Farbstoffe selbst reversible Oxydations-Reduktionssysteme darstellt, die im Gebiet ihres Farbumschlags praktisch unbegrenzte und für sie charakteristische Redoxpotentiale (Eh) gegen die Normal-H-Elektrode besitzen, gelingt es, das jeweilige Redoxpotential in einer Bakterienkultur indikatormäßig durch Zusatz geeigneter Farbstofflösungen (Redoxindikatorreihe nach *Cohen*, *Chambers*, *Reznikoff*) und Prüfung auf Umschlag annäherungsweise zu messen. Hierbei ist jedoch zu beachten, daß sich zwischen dem Redoxsystem des Farbstoffs und dem zu untersuchenden, durch Substanzen in der Umgebung der Zellen hervorgerufenen Redoxsystem ein Gleichgewicht einstellt und hierdurch eine „Beschwerung“ des Potentials im Zellmilieu verursacht wird. Diese „Beschwerung“, die etwa einer Pufferung bei Ionen analog zu setzen ist, läßt sich durch Verwendung sehr geringer Farbstoffkonzentrationen weitgehend unterdrücken.

Andererseits sind aber gerade die unter Beteiligung von Farbstoffen mit physiologischem Umschlagspotential zustandekommenden Oxydoreduktionen, auf die sich wichtige differentialdiagnostische Verfahren in der Bakteriologie gründen, als Nachweisreaktionen für den bakteriellen Verwendungsstoffwechsel zu verwerten (*Cohen*, *Wolf*, *Carapelle*, *M. Hahn* und *Catheart*, *Maassen*, *Oberstadt*, *Bieling*, *Loeffler* und *Rigler*). Bildet sich z. B. unter der Farbstoffeinwirkung ein Gleichgewicht mit den zur Prüfung auf Verwendbarkeit zu einer Zellart zugefügten Stoffen aus, wie es *Quastel* bei Bakterien unter anaëroben Bedingungen für die normalerweise und ohne Katalysator nicht mögliche Reaktion

$$\text{Bernsteinsäure} + \text{Methylenblau} \rightleftharpoons \text{Fumarsäure} + \text{Leukomethylenblau}$$

weder Laktat noch Glycerin oder Glycerophosphat als H-Donatoren verwerten können, aber auch aus essigsäurem, Ameisensäurem, harnsteinsäurem, fumar-säurem, äpfelsäurem, weinsäurem, zitronensäurem, buttersäurem, valeriansäurem und asparaginsäurem Natrium, aus d,l-a-Alanin, d-Arginin, Mannit, Arabinose und Rhamnose ist Wasserstoff nicht durch Fränkelbazillen aktivierbar. Die Aktivierung von Glykokoll, d,l-Serin, Cystin, Sorbit, Dextrose, Lävulose, Saccharose, Maltose und Stärke erfolgt bei Fränkelbazillen etwa in demselben Maße wie bei Diphtheriebazillen. Laktose wird von Fränkelbazillen sehr schnell, Äthylalkohol verhältnismäßig langsam dehydriert.

Serum und Fleischwasser enthalten viele H-Donatoren, die vor allem dadurch ausgezeichnet sind, daß sie eine besonders große Reduktionsintensität aufweisen und mit allen geprüften Bakterienarten auch in erheblichen Verdünnungen die Farbstoffe zu reduzieren vermögen. Die übliche Verwendung gerade von Fleischwasser zur Züchtung von Bakterien dürfte unter anderem auf seinem hohen Gehalt an geeigneten H-Donatoren beruhen.

Aus Pepton können ebenfalls durch Bakterien H-Donatoren aktiviert werden, doch unterscheiden sich einzelne Pepton-sorten bei vergleichender Untersuchung mit gleich dichten Bakterienaufschwemmungen recht erheblich in der Intensität der Farbstoffreduktion. Es lassen sich somit mit Hilfe der Farbstoff-methode nicht nur synthetische Nährstoffe und Energiequellen für Bakterien ausfindig machen, sondern es können auch Stoffgemische von mehr oder weniger „natürlichem“ Gepräge auf ihre Verwendbarkeit für den bakteriellen Stoffwechsel untersucht werden. Hierbei ergibt sich auch eine Möglichkeit, dem Einfluß der mit Naturstoffen häufig vergesellschafteten Reizstoffe und Vitamine auf die Ausbildung der Bakterienfermente nachzugehen.

Zur Feststellung der Aktivierung von H-Akzeptoren werden die zu prüfenden Substanzen mit den Farbstoffleukoverbindungen versetzt. Die Oxydation zum Farbstoff zeigt dann eine

akzeptor anaërob zu wachsen. Auch äpfelsaures Natrium kann als Akzeptor dienen.

Eino große Rollo bei der Ausbildung der Fermentfunktionen spielt der Eloktrolytgehalt des Milieus, indem die Anionen entsprechend ihrer Anordnung in der *Hofmeisterschen* Reihe vom Chlorid zum Rhodanid zunehmend schädigend wirken. Noch größer ist der Einfluß der Wnsserstoffionenkonzentration auf die Fermenteigenschaften der Bakterien. Nach *Ehrismann* verschiebt sich das pH -Optimum für Diphtheriebazillen von pH 7,4 bis 7,6 bei Sauerstoffatmung auf pH 5,0 bei der Nitratreduktion.

Untersucht man nach der *Braunschen* Arbeitsweise gut gewaschene Bakterien in einer Phosphat-Kochsalz-Aufschwemmung unter Luftabschluß durch Vaseline auf ihre Eignung, organische Verbindungen zu einer Farbstoffreduktion anzuregen, so ergibt sich auch bei Verwendung gleichmolarer Stoffmengen und gleich dichter Bakterienaufschwemmungen, daß in den Fällen einer H-Aktivierung die Reduktionsintensität durchaus ungleich ist. Es werden z. B. Na-Laktat, d, l-Serin, l-Cystin, Äthylalkohol, Glycerin, Na-Glycerophosphat, Sorbit, Dextrose, Maltose und Stärke sowohl von Diphtheriebazillen wie von Staphylokokken bei pH 7,4—7,6 sehr schnell dehydriert, langsamer Na-Succinat und Glykokoll. Dagegen sind bei beiden Bakterienarten die Natriumsalze der Äpfelsäure, Weinsäure, Citronensäure, Valeriansäure und Asparaginsäure, ferner d-Arginin, Mannit, Arabinose, Rhamnose und Laktose ungeeignet als H-Donatoren. Diphtheriebazillen vermögen im Gegensatz zu Staphylokokken aus essigsaurem, fumarsanrem und buttersaurem Natrium in geringem Maße Wasserstoff zu aktivieren, während eine solche Aktivierung aus d,l- α -Alanin nur bei Staphylokokken und nicht bei Diphtheriebazillen zu beobachten ist. Saccharose und Lävulose werden von Staphylokokken schneller dehydriert als von Diphtheriebazillen.

Fränkelbazillen unterscheiden sich insofern von diesen beiden Bakterienarten, als sie bei gleichen Versuchshedingungen

len-Aufschwemmungen und Indigotetrasulfonat als Akzeptor durchgeführten Untersuchung wirkt

Phenol in Verdünnungen bis	0,1 %
Rivanol „ „ „	0,001 %
Hg in organ. Bindung „ „ „	0,00001 %

hemmend auf die Aktivierung der H-Donatoren aus 1:10 verdünntem Pferdeserum.

Für eine Analyse immunchemischer Vorgänge erscheinen die bisher berücksichtigten Faktoren der Fermentbeeinflussung bei Bakterien, wie Elektrolytgehalt und Wasserstoffionenkonzentration des Milieus, ferner die chemische Einwirkung auf die oxydierenden und reduzierenden Eigenschaften der Bakterien, noch nicht ausreichend zu sein. *H. Braun* hat nur gelegentlich eine Verminderung der dehydrierenden Funktion durch Beladung mit Agglutininen und Ambozeptoren beobachten können. Es gilt daher, noch weitere Methoden der Fermentbeeinflussung, z. B. solche physikalisch-chemischer Natur, zur Untersuchung heranzuziehen.

In dieser Richtung angestellte Versuche ergeben eine sehr erhebliche Fermentbeeinträchtigung durch Benetzen der Bakterienoberfläche mit grenzflächenaktiven Substanzen. In der Reihe der höheren Alkohole wirken Oktyl- und Nonylalkohol am stärksten hemmend auf die dehydrierenden Bakterieneigenschaften. Noch wirksamer erweisen sich aber physiologische Bestandteile mit hoher Oberflächenaktivität, wie Fettsäuren und Lecithine oder Serumlipoide, durch die, besonders bei Diphtheriebazillen, die Aktivierung von Wasserstoff im Laktat auch in hohen Konzentrationen vollständig unterdrückt wird. Wird Serum oder Fleischwasser zur Dehydrierung benutzt, so ist die Hemmung nicht immer vollständig; sie kommt jedoch auch in diesen Fällen zustande, wenn die Bakterien vor Zusatz zum Versuch kurze Zeit Gelegenheit hatten, sich mit den fettsauren Salzen oder Lipoiden zu beladen.

stattfindende H-Aktivierung an. Zweckmäßiger ist es, unter Beibehaltung der zuvor beschriebenen Versuchsordnung zu einer Farbstofflösung die zur Überführung in die Leukoverbindung erforderliche Mindestmenge eines geeigneten Donators zuzufügen und zu beobachten, ob die Farbstoffreduktion auch noch in Gegenwart der auf Akzeptorwirkung zu prüfenden Substanz stattfindet. Bei Diphtheriebazillen und Staphylokokken läßt sich z. B. auf diese Weise nachweisen, daß fumarsaures, äpfelsaures und weinsaures Natrium für den aus Laktat und Glycerin oder aus verdünntem Serum und Fleischwasser aktivierten Wasserstoff wirksamer Akzeptoren sind als Methylenblau oder Indigotetrasulfonat. Bei vergleichender Untersuchung dieser chemisch verwandten Substanzgruppe läßt sich feststellen, daß die Befähigung zum H-Akzeptor parallel mit dem Oxydationszustand in der Reihenfolge: Fumarsäure, Äpfelsäure, Weinsäure ansteigt.

Auffallenderweise erfährt die von geringen Mengen Laktat oder Glycerin angeregte Methylenblaureduktion der Staphylokokken in Gegenwart von Asparaginat, das allein keine Farbstoffreduktion hervorrufen kann, eine sehr erhebliche Beschleunigung. Auch die Donatorenwirkung von Dextrose, Maltose und Fleischwasser kann durch Zusatz von Asparaginat zu Staphylokokken stark gesteigert werden, es gelingt sogar, unterschwellige Mengen der Donatoren mit Hilfe von Asparaginat nachzuweisen. Ohne auf Wesen und Bedeutung dieser Reaktion näher einzugehen, die in geringerem Maße auch bei Diphtheriebazillen, nicht aber bei Fränkelbazillen zu beobachten ist, sei hier lediglich auf die Brauchbarkeit der Farbstoffmethode zum Nachweis fermentaktivierender und entsprechend auch fermenthemmender Substanzen hingewiesen.

Sie gestattet vor allem eine einwandfreie und sehr einfache Prüfung der Desinfektionsmittel und Chemotherapeutica auf ihre fermenthemmende Wirkung, die nach *H. Braun* bereits in Konzentrationen nachweisbar ist, die weit unter den abtötenden Konzentrationen liegen. In einer mit gleich dichten Diphtheriebazil-

len-Aufschwemmungen und Indigotetrasulfonat als Akzeptor durchgeführten Untersuchung wirkt

Phenol in Verdünnungen bis 0,1 %			
Rivanol	„	„	0,001 %
Hg in organ. Bindung	„	„	0,00001 %

hemmend auf die Aktivierung der H-Donatoren aus 1:10 verdünntem Pferdeserum.

Für eine Analyse immunchemischer Vorgänge erscheinen die bisher berücksichtigten Faktoren der Fermentbeeinflussung bei Bakterien, wie Elektrolytgehalt und Wasserstoffionenkonzentration des Milieus, ferner die chemische Einwirkung auf die oxydierenden und reduzierenden Eigenschaften der Bakterien, noch nicht ausreichend zu sein. *H. Braun* hat nur gelegentlich eine Verminderung der dehydrierenden Funktion durch Beladung mit Agglutininen und Amhozeptoren beobachten können. Es gilt daher, noch weitere Methoden der Fermentbeeinflussung, z. B. solche physikalisch-chemischer Natur, zur Untersuchung heranzuziehen.

In dieser Richtung angestellte Versuche ergeben eine sehr erhebliche Fermentbeeinträchtigung durch Benetzen der Bakterienoberfläche mit grenzflächenaktiven Substanzen. In der Reihe der höheren Alkohole wirken Oktyl- und Nonylalkohol am stärksten hemmend auf die dehydrierenden Bakterieneigenschaften. Noch wirksamer erweisen sich aber physiologische Bestandteile mit hoher Oberflächenaktivität, wie Fettsäuren und Lecithine oder Serumlipide, durch die, besonders bei Diphtheriebazillen, die Aktivierung von Wasserstoff im Laktat auch in hohen Konzentrationen vollständig unterdrückt wird. Wird Serum oder Fleischwasser zur Dehydrierung benutzt, so ist die Hemmung nicht immer vollständig; sie kommt jedoch auch in diesen Fällen zustande, wenn die Bakterien vor Zusatz zum Versuch kurze Zeit Gelegenheit hatten, sich mit den fettsauren Salzen oder Lipiden zu beladen.

Prüft man den Einfluß von Adsorptionsmitteln auf die Ausbildung der Bakteriendehydrogenasen, so findet man Kaolin, aktivo Kohle, Tonerdehydrat und Aluminiumhydroxydgel geeignet, die Laktataktivierung durch Diphtheriebazillen zu unterbinden. Bei gleicher Bakterienkonzentration wirkt aber von diesen Stoffen nur stark hydratisiertes Aluminiumhydroxydgel als „Adsorptionsdesinfiziens“ hemmend auf die Aktivierung der H-Donatoren des Serums. Von biologischen Adsorptionsmitteln erweist sich das von Donatoren befreite Präzipitat aus Diphtherieserum und Diphtherietoxin (T. A. F.) im gleichen Sinne wirksam wie das Aluminiumhydroxydgel. Die Wirkung des T. A. F. erstreckt sich, entsprechend der etwas schwierigeren adsorptiven Beeinflussung, auch auf die Dehydrogenasen der Staphylokokken, ist also in diesem Sinne nicht spezifisch.

Es sei schließlich erwähnt, daß die Reduktion oder Oxydation von Farbstoffen durch Bakterien neben ihrer Bedeutung als Nachweisreaktion für den bakteriellen Stoffwechsel und die Funktion der Bakterienfermente auch vom Standpunkt der chemischen Synthese Beachtung verdient. Bei Auswahl jeweils geeigneter Farbstoffe erscheint die Verwendung der Bakterienfermente unter Sauerstoffabschluß besonders brauchbar für die Gewinnung biologisch wertvoller, auf chemischem Wege noch nicht darstellbarer Substanzen. Zu diesen sind vor allem die primären Oxydationsprodukte aus Zuckern zu rechnen, die im Zusammenhang mit der Entdeckung der Ascorbinsäure (*Szent-Györgyi, Tillmans, Michael, Reichstein, Hirst, Haworth*) zur Zeit großes Interesse verdienen.

Kolloid-physiko-chemische Methoden in der Pharmakologie

Die intravenöse Injektion vom kolloid-physiko-chemischen Standpunkt aus.

APOTHEKE DÜRZBACH

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Hoechst

Die Diskrepanz zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung ist der beste Beweis für die Unzulänglichkeit der klassisch-chemischen Betrachtungsweise in der Biologie. Nachdem man den pflanzlichen und tierischen Organismus als komplizierte kolloid-physiko-chemische (k.ph.ch.) Systeme erkannt hatte, durfte man ihn fortan auch nicht mehr mit den Reaktionssystemen der klassischen Chemie vergleichen. *Wolfgang Ostwald* prägte in seiner „Welt der vernachlässigten Dimensionen“ sogar den Satz: „Wir bezeichnen nur solche Gebilde als Organismen, an denen wir den kolloiden Zustand unter allen Umständen nachweisen können.“ Daher ist für das Verständnis biologischer Vorgänge die Kenntnis der Kolloid-Physiko-Chemie unbedingt erforderlich. Nur durch sie wird es einmal möglich sein, die Grundphänomene der Physiologie zu klären, und nur mit ihrer Kenntnis und ihren Methoden wird es gelingen, Pharmakologie und synthetische pharmazeutische Chemie auf solidere Basis zu stellen.

Wir stehen heute im Anfang dieser Forschungsrichtung. Die Kolloid-Physiko-Chemie selbst ist eine junge Wissenschaft. Ihre methodischen Schwierigkeiten sind auf manchen Gebieten, wie auf dem biologischen, sehr groß. Es ist daher vielleicht gleich zu Beginn dieser Abhandlung angebracht, darauf hinzuweisen, wie falsch es wäre, mit den verhältnismäßig einfachen und wenigen bis jetzt bekannten Methoden und Gesetzen schwierige und undurchsichtige physiologische und pharmakologische Fragen heranzuhelfen zu wollen. Es ist weder zur Freude des Experimentators, noch hebt es das Ansehen der Wissenschaft.

Wenn ich daher im folgenden über einige ausgewählte Methoden der Kolloid-Physiko-Chemie in der Pharmakologie berichten will, so möchte ich das nun Hand einer einfachen pharmakologischen Fragestellung tun: Welche k.ph.ch. Eigenschaften muß eine wässrige Lösung haben, um zur intravenösen Injektion geeignet zu sein?

Um diese Frage beantworten zu können, ist es vor allen Dingen nötig, die Kolloid-Physiko-Chemie des Blutes kennen zu lernen. Da aber das Blut durch die störenden Formelemente und schnelle Gerinnbarkeit für die meisten Studien sehr ungeeignet ist, verwendet man am zweckmäßigsten das Serum, das man von gesunden Tieren, meist Pferden, bei gleicher Herstellungsweise in stets gleicher Güte erhalten kann.

Gehen wir ohne weitere Erläuterungen, die sich im folgenden von selbst ergeben, gleich in medias res.

Die Wasserstoffionenkonzentration des Serums ist gegenüber der des Blutes deutlich nach der alkalischen Seite verschoben infolge der teilweisen Entfernung der Kohlensäure. Während wir beim normalen Blut ein pH von $\sim 7,3$ bei $20^{\circ}C$ haben, zeigt das Serum ein pH von $\sim 7,8$ bei gleicher Temperatur. Da diese Verschiebung nicht unbeträchtlich ist und die Löslichkeitsart mancher Salze stark beeinflussen kann (kolloid- oder molekular-dispers), so ist bei Rückschlüssen von Serumversuchen in vitro auf das Blut auf diese Tatsache immer zu achten. Durch die große Pufferkapazität des Serums ist aber die intravenöse Verwendung ungepufferter Arzneimittellösungen anderer Wasserstoffionenkonzentration als der physiologischen in bestimmten Grenzen unbedenklich.

Fangen wir unsere Besprechung mit dem Wasser als dem prozentual größten Anteil des Serums an. Wir dürfen nicht, wie z. B. bei einer Lösung anorganischer Salze in Wasser, annehmen, daß das gesamte in dem System vorhandene Wasser zur Dissoziation frei zur Verfügung steht; es ist zum größten Teil als sogenanntes Hydratationswasser an das Eiweiß adsorbiert. Das

freie Wasser nur zeigt das gewöhnliche Verhalten in Lösefähigkeit und Dampfdruck, das gebundene, mehr oder weniger in orientierter Schicht vorliegende Wasser gibt kleinen Dampfdruck, veränderte Leitfähigkeit und hohe Viskosität. Diese Hydratation der Eiweißteilchen ist nach *Kruyt* der wesentliche Faktor für ihre Lösungsstabilität. Wird diese Wasserhülle entfernt, so bleiben die Eiweißteilchen aneinander haften, sie koagulieren, und das Eiweiß fällt aus der Lösung aus. Man kann diesen Vorgang sehr schön beobachten, wenn man zu Serum eine Substanz hinzugibt, deren Wasseranziehungsvermögen noch größer ist als das der Serum-Eiweißmicellen, z. B. Alkohol.

Läßt man in ein Becherglas, das mit Serum angefüllt ist, seitlich einen kräftigen Lichtstrahl, etwa von einer Bogenlampe, einfallen, so kann man senkrecht zu seiner Einfallsrichtung seinen Weg genau sehen. Macht man den Versuch mit reinem Wasser, so bleibt der Weg des Lichtstrahls unsichtbar, denn die Ursache der seitlichen Ausstrahlung des Lichtes sind die gegenüber den Wassermolekülen sehr viel größeren Serum-Eiweißteilchen; sie reflektieren das auf sie auffallende Licht aber nicht, da sie kleiner sind als die Wellenlänge des Lichtes, sondern sie beugen es ab, und zwar um so mehr, je größer und je weniger hydratisiert sie sind und je kleiner die Wellenlänge des einfallenden Lichtes ist. Mißt man also die Lichtstärke des seitlich abgelenkten Lichtes unter Berücksichtigung seiner günstigsten Austrittsrichtung bei Teilchen verschiedener Größe, das ist bei einem Winkel von 135° zum primären Lichtstrahl, so hat man ein relatives Maß für die Teilchengrößenzunahme.

Für die praktische Ausführung dieser Messungen ist das *Pulfrich-Zeiss'sche* Stufenphotometer heute wohl das geeignetste Instrument. Die Messungen sind so fein, daß man Trübungen quantitativ erfassen kann, die mit dem bloßen Auge nicht einmal gesehen werden können.

Messen wir also das abgelenkte Licht von reinem Serum zu $\sim 10\%$ vom Primärlicht und geben zu 10 ccm Serum

40 Tropfen Alkohol zu, so finden wir unter Vernachlässigung der Volumenänderung $\sim 70\%$ abgebeugtes Licht, was also eine Größenzunahme der Serum-Eiweißteilchen, eine Koagulation und Dehydratation bedeutet.

Wenn wir auch bei dieser Methodo den Vorzug des Quantitativen haben, so sagt sie doch gar nichts aus über die Einheitlichkeit der Größenzunahme. Man kann sehr gut annehmen, daß durch die Zugabe konzentrierten Alkohols lokale Koagulationen stattfanden, so daß die Größe der Mehrzahl der Teilchen unverändert blieb und nur einige verhältnismäßig große Teilebenanhäufungen vor sich gingen. Für unsere Fragestellung bei der intravenösen Injektion ist aber gerade diese Hetero- bzw. Homodispersität von großer Bedeutung. Einen Einblick in diese Zustände gibt uns das ebenfalls auf der Abbeugung der Strahlen, dem sogenannten Tyndallphänomen beruhende Ultramikroskop, bei dem man zwar die Teilchen selbst nicht, wohl aber ihre Beugungsscheibchen einzeln wahrnehmen kann, vorausgesetzt, daß die Teilchen nicht zu klein sind und durch ihre Hydratation noch genügend Licht abbeugen können. Das frische Serum zeigt aus diesem letzten Grunde im Ultramikroskop keine einzelnen Beugungsscheibchen, sondern durch die vielen kleinen, nicht einzeln wahrnehmbaren erscheint das gesamte Gesichtsfeld aufgehellert. Beim alkoholhaltigen Serum sieht man aber einzelne größere Beugungsscheibchen, also ein Zeichen dafür, daß die Serum-Eiweißteilchen nicht einheitlich dehydratisiert und vergrößert worden sind. Diese Heterodispersität des Serums kommt also durch solche Substanzen zuwege, deren Koagulationsvermögen äußerst stark ist, so daß sie schon bei der kürzesten Berührungzeit die ihnen nächsten Teilchen zu starken und irreversiblen Aggregationen veranlassen. Als Folge dieser großen Teilchen kann aber bei intravenöser Injektion ein Schock bzw. eine Embolie entstehen.

Man ersieht hieraus, wie wichtig neben der photometrischen Messung der durchschnittlichen Größenzunahme die Prüfung

des Pharmakon-Serums auf Homodispersität im Ultramikroskop ist.

Aber nicht allein die Größe, sondern auch die Gestalt des Koagulationsproduktes ist ein überaus wichtiger Punkt. Dieser Tatsache hat man besonders dann seine Aufmerksamkeit zuzuwenden, wenn es sich um die Injektion kolloid-gelöster Substanzen handelt. Hierbei spielen oft die Elektrolyte des Serums die ausschlaggebende Rolle, was man leicht daran erkennt, daß dieselben Koagulationen in Tyrode- oder Ringer-Lösung auftreten, hierin sogar meistens noch stärker durch den fehlenden Schutz der Eiweißkörper und die vollkommene Dissoziation der Elektrolyte. Wie nämlich aus den Gefrierpunkts- und den elektrischen Leitfähigkeitsbestimmungen des Serums hervorgeht, liegen nicht die gesamten Elektrolyte dissoziiert vor. Das gilt, ausgenommen für Kochsalz, besonders für die Calcium- und Magnesiumsalze.

Bringt man nun eine elektrolytempfindliche Lösung eines meist organischen Kolloids mit Serum- oder Tyrode-Lösung zusammen und beobachtet eine fadenförmige Koagulation, so kann man mit Sicherheit annehmen, daß diese Substanz, in kleinster Menge intravenös injiziert, den sofortigen Exitus eines Tieres zur Folge hat: denn durch die fadenförmige Beschaffenheit des Koagulates kann es, rein mechanisch betrachtet, viel leichter zu Embolien kommen als bei dem oben angeführten, der Kugelform angenäherten Alkoholkoagulat. Bei allen denjenigen kolloiden Substanzen aber, die ein fadenförmiges Koagulationsprodukt zeigen, findet man die Anisotropie schon im ultramikroskopischen Teilchen präformiert. Ist das Teilchen in ultramikroskopischer Beziehung groß, so kann man im Kardioid-Ultramikroskop direkt seine Konturen sehen. Solche, z. B. stäbchenförmige Submikronen enthaltende Lösungen koagulieren meist in langen Faden und sind sehr „giftig“. Ist das Teilchen aber klein, so wird man infolge seiner zirkulären Belichtung im Kardioid-Ultramikroskop und seiner rotatorischen *Brownsehen* Bewegung

keine Anisotropie erkennen können. Das wird erst dann möglich sein, wenn die Teilchen nur noch von einer oder zwei Seiten beleuchtet werden, denn man sieht ein Teilchen nur dann, wenn es mit seiner Längsachse senkrecht zur Einfallsrichtung des Lichtes steht. Durch die Bewegung entsteht dann ein abwechselndes Aufleuchten und Dunkelwerden des anisotropen Teilchens: es funkelt, während das kugelige Teilchen gleichmäßiges Licht aussendet.

Den für das Funkelphänomen gewünschten Strahlengang im Kardioid-Kondensor erreicht man mit Hilfe einer sogenannten Azimutblende, die, wie der Name schon sagt, dafür sorgt, daß das Licht nur in einem bestimmten Azimut einfällt.

Ein makroskopisch sehr schönes Verfahren zur Bestimmung nicht kugelliger Teilchen, auf das hier nur kurz hingewiesen sei, beruht auf der Doppelbrechung der durch Strömung geordneten Teilchen.

Diese Formbestimmung der kleinen Teilchen ist bei den zur intravenösen Injektion zu verwendenden kolloiden Lösungen wichtig zur Voraussage einer etwaigen Toxizitätsänderung beim Lagern, denn anisotrope Teilchen altern schneller als kugelförmige und dadurch wird bei der Stäbchenform die Fadenkoagulation immer ausgeprägter, somit die Lösung immer toxischer.

Während also die Lösungen mit stäbchenförmigen Submikronen und fadenförmigen Koagulationsprodukten für die intravenöse Injektion völlig ungeeignet sind, ist bei solchen Lösungen, bei denen eine von der Kugelgestalt abweichende Form gefunden wurde, genau auf ihre Alterung und Toxizitätsänderung zu achten.

Aber noch ein weiterer Umstand ist hier zu berücksichtigen. Ist die Viskosität der Arzneimittellösung beträchtlich größer als die des Serums, so ist bei intravenöser Injektion eine Mischung mit dem Blute nicht schnell genug möglich. Das injizierte Pharmakon wirkt als Fremdkörper und ruft dieselben Erscheinungen

hervor wie bei fadenförmigen Koagulationsprodukten: Schoek und Embolie.

Für die Serum-Eiweißkörper, deren Betrachtung für die weiteren Darlegungen nötig ist, reicht der klassische Molekül- und Valenzbegriff allein nicht aus. *S. P. L. Sørensen* faßt sie auf Grund seiner und seiner Mitarbeiter Studien sowie nach den Arbeiten von *The Svedberg* und seinen Mitarbeitern über die Serum-Proteine als reversibel dissoziierbare Komponentensysteme auf und reiht sie in die allgemeine Micellarstrukturtheorie von *K. H. Meyer* und *Mark* ein. Es kann hier nicht näher auf diese hervorragenden Arbeiten eingegangen werden, nur so viel sei gesagt, daß innerhalb einer Komponente, hauptsächlich aus Polypeptiden bestehend, die Atomgruppen gegenseitig durch Hauptvalenzketten verknüpft sind, während die verschiedenen Komponenten wieder durch Nebenvalenzen zu einem Komponentensystem zusammengehalten werden. Die Bindung durch diese Nebenvalenzen ist schwach; durch geringe Änderung in der Zusammensetzung der Lösung können reversible Dissoziationen hervorgerufen werden. Man muß aber auch annehmen, daß die assoziierenden Kräfte, die ein System zusammenhalten, auch auf Nachbarsysteme wirksam sind, so daß ein Wechselspiel nicht nur innerhalb der Globuline und der Albumine, sondern auch zwischen den beiden Gruppen und zwischen Proteinen und Lipiden wahrscheinlich ist. Daß letztere in irgendeiner Weise an die Proteine gebunden sind, geht schon daraus hervor, daß das Serum trotz seines Lipoidgehalts klar ist, andererseits sich die Lipide mit Äther nicht quantitativ entfernen lassen.

Faßt man also die Serum-Eiweißteilchen nicht als Moleküle, sondern als Molekülaggregate auf, so ist es klar, daß für ihre Lösungen die stöchiometrischen Gesetze keine Gültigkeit mehr haben. Somit sind auch die elektrischen Ladungen, die die Eiweißteilchen tragen, nicht allein auf ihre Ionisation zurückzuführen, sondern es soll hier mit *Freundlich*, *Kruyt* und *Bungenberg de Jong* u. a. angenommen werden, daß die Ladung der

hydratisierten Eiweißteilchen weitgehend in Adsorptionen ihre Ursache hat.

Das Ladungsvorzeichen kann man sehr einfach durch Elektrophorese messen, indem man z. B. in die beiden Schenkel eines mit Serum gefüllten U-Rohres umkehrbare Elektroden einhängt und Gleichstrom durchschickt. Die Serum-Eiweißteilchen wandern zum positiven Pol, sind also negativ aufgeladen.

Hat man eine kolloide Pharmakon-Lösung, deren Teilchen ebenfalls ein negatives Ladungsvorzeichen tragen, so wird sie, vorausgesetzt, daß sie keine stürmischen chemischen Reaktionen auslöst und gegen Elektrolyte stabil ist, intravenös gut verträglich sein. Sind nun aber die Pharmakon-Teilchen positiv aufgeladen, so kommt es, da bei diesen Selen die Ladung oft der einzige Faktor der Lösungsstabilität ist, primär durch Entzug der positiven Ladung durch die negativen Eiweißteilchen zu Flockungen. Obwohl diese Injektion kolloid-physiko-chemisch nicht so reaktionslos verläuft wie bei negativ geladenen Pharmakon-Teilchen, so darf man hieraus doch keine absolute Unbrauchbarkeit folgern. Es kommt vielmehr darauf an, ob und mit welcher Schnelligkeit die Flockungen wieder peptisiert werden, also in Lösung kommen. Geht diese Umladung schnell vor sich, so kann man unhedenklich ein solch positiv geladenes Sol zur Injektion verwenden; geht sie aber nur langsam vor sich, so kommt es, wie oben erwähnt, auf die Form und Größe des Koagulates an.

Die Ladung kolloid-disperser Pharmakon-Lösungen kann man entweder wie beim Serum makroskopisch im U-Rohr bestimmen oder bei ultramikroskopisch sichtbaren Teilchen einfacher und schneller durch direkte Beobachtung der Wanderungsrichtung der Teilchen im Ultramikroskop. Ist aber die Lösung molekulardispers, so hat man in dem Fürthschen Hochspannungsverfahren eine schnelle und hequeme Bestimmungsmethode. Das Prinzip besteht darin, daß man höhere Spannungen 500—800 V Gleichstrom verwendet und dadurch die der Elektrophorese

entgegenwirkende große Beweglichkeit der kleinen Teilchen kompensiert; weiterhin in der Verwendung von Halbleitern als Elektroden, wodurch die besonders bei gut leitenden Flüssigkeiten störende Elektrolyse vermieden wird. Die Teilchen werden also an dem Halbleiter mit elektrisch entgegengesetztem Vorzeichen adsorbiert.

Zum Schlusse dieser Betrachtungen ist es noch nötig, auf die Oberflächenspannung hinzuweisen, die eine maßgebende Rolle bei der Hämolyse spielt. Berechnet man die statische Oberflächenspannung z. B. aus dem Abreißgewicht eines mit einer Kante in die Flüssigkeit eintauchenden Platinblechs, so findet man bei normalem Serum eine solche von $\sim 57 \text{ dyn} \cdot \text{cm}^{-1}$. Die Arzneimittellösungen dürfen diesen Wert sogar noch um einen bestimmten Betrag unterschreiten, bis bei gewaschenen Blutkörperchen Hämolyse eintritt. In Blutkörperchen mit Serum übt dieses noch einen weitgehenden Schutz aus, wahrscheinlich indem es die oberflächenaktiven Substanzen adsorbiert oder, wie *Kofler* beim Saponin annimmt, chemisch an das Cholesterin bindet.

Die vorliegenden Ausführungen erheben keinen Anspruch auf erschöpfende Behandlung des Themas. Sie versuchen lediglich zu zeigen, wie mit Hilfe kolloid-physiko-chemischer Forschungsmethoden pharmakologische Fragestellungen bearbeitet werden können. Praktisch führen die hier im Speziellen dargelegten Methoden und Überlegungen dazu, manches wertvolle, aber zunächst intravenös unverträgliche Heilmittel der Therapie zu erhalten.

Die hypnophore Gruppe

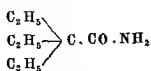
DR. G. ERRLART

Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Hoechst

Nach der Theorie von *Overton* und *Meyer* hängt die Wirksamkeit eines Schlafmittels ab von dem Teilungskoeffizienten, d. h. von dem Verhältnis zwischen Lipoidlöslichkeit (lipoidreiche Nervenzellen) und Wasserlöslichkeit (Blut). *K. H. Meyer* hat später diese Theorie präziser ausgedrückt und sie nach physikalisch-chemischen Regeln formuliert. *I. Traube* erklärt die Wirksamkeit der Narkotica mit physikalisch-chemischen Eigenschaften wie Kapillaraktivität, Oberflächenspannung, Haftdruck usw. Auf andere Theorien soll hier nicht eingegangen werden. Diese Theorien, die alle das Problem der Schlafmittelwirkung mehr oder weniger gut erklären und sicher einen Wert im Sinne der Elektivität haben, halten jedoch einer rein chemischen Betrachtung nicht stand. Denn wären nur die geforderten physikalischen bzw. physikalisch-chemischen Eigenschaften für die Wirkung eines Schlafmittels maßgebend, so müßten sehr viele Substanzen Schlafmittel sein, was aber durchaus nicht zutrifft. Vielmehr müssen bei diesen Substanzen noch weitere rein chemische Eigenschaften erfüllt sein, d. h. es müssen gewisse Atomgruppierungen vorhanden sein, die man zusammenfassend als „hypnophore Gruppe“ bezeichnen kann. Diese Abhängigkeit der therapeutischen Wirkung einer Substanz von bestimmten Gruppen ist wohl zum ersten Male von *Ehrlich* klar ausgesprochen worden, wenngleich damit natürlich nicht gesagt sein soll, daß man über die Wirksamkeit einer Substanz etwas aussagen kann, sofern man nur ihre chemische Konstitution kennt.

Die hypnophore Gruppe ist gekennzeichnet durch ein Kohlenstoffatom, das mit Alkyl-, Alkylen-, Aralkyl-, Aralkylen-, Arylresten oder Halogen (Cl und Br) belastet ist, in Verbindung

mit einer Hydroxyl-, Keto-, Sulfon-, Amid- oder Ureidgruppe, also z. B.



Novonal

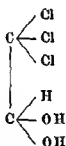


Avertin

Und wenn wir heute, nachdem die Schlafmittelsynthese zu einem gewissen Abschluß gelangt ist, eine Einteilung der Schlafmittel nach diesen hypnophoren Gruppen vornehmen, so lassen sich in etwa sieben Abteilungen alle Narkotica unterbringen. Naturgemäß können in diesem begrenzten Rahmen nicht alle erwähnt werden, es soll vielmehr jeweils neben den Hauptvertretern eine Verbindung gewissermaßen als Typ vorangestellt werden.

1. Aldehyde.

In der Reihe der Aldehyde spielt heute nur noch das Chloral bzw. Chloralhydrat



und der Paraldehyd eine gewisse Rolle. Im übrigen aber war die chemische Forschung in dieser Reihe wenig erfolgreich und auch kaum lohnend.

2. Ketone.

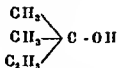
Nur das Hypnon, das Acetophenon



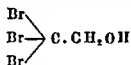
konnte vorübergehend im Arzneischatz Fuß fassen, ist aber heute hauptsächlich wegen seiner unangenehmen Nebenwirkung durchweg von besseren Mitteln verdrängt worden.

3. Alkohole.

Als Beispiele dieser Gruppe seien angeführt das Amylenhydrat, der tertiäre Amylalkohol



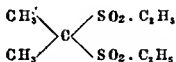
das Isopral, der Trichlorisobutylalkohol, das Chloreton, der Trichlortertiärbutylalkohol, die aber schon längst wegen ihrer unzureichenden Wirkung wieder verschwunden sind. Erst im Jahre 1923 gelang *Willstätter* und *Duisberg* als ersten die Reduktion des Tribromacetaldehyds mit Hilfe von Hefe zum Tribromaethylalkohol. In der Folgezeit erwies sich dieser Tribromaethylalkohol



als ein ausgezeichnetes Narkotikum und wurde unter dem Namen „Avertin“ in die Reihe der Arzneimittel eingeführt.

4. Disulfone.

Das Sulfonal

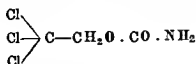


das 1888 von *Kast* empfohlen worden ist, hat heute ebenso wie Trional und Tetronal wegen der Nachwirkung keine große Bedeutung mehr.

5. Derivate der Carbaminsäure.

Nachdem das Urethan, der Carbaminsäureaethylester; das Hedonal, der Carbaminsäuremethylpropylester; das Aleudrin, der Carbaminsäureester des Dichlorisopropylalkohols; das Aponal, der Carbaminsäureamylester, längst von besseren und zuverlässigeren Schlafmitteln verdrängt waren, setzte in dieser Reihe im Jahre 1922 erneut die chemische Synthese ein.

Willstätter und Duisberg gelang es, das Urethan des Trichlor-
aethylalkohols

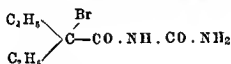


darzustellen, das unter dem Namen „Voluntal“ in den Arznei-
schatz übernommen worden ist.

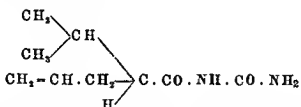
6. Harnstoffderivate.

Die Harnstoffderivate stellen den größten Anteil unserer
modernen Schlafmittel, wobei ich noch drei Gruppen unterschei-
den möchte, nämlich die offenen Ureide, die ringförmigen Ureide
und deren Stickstoffsuhstitutionsprodukte.

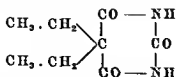
Zur ersten Gruppe gehört das bekannte und langerprobte
Adalin:



das Diaethylbromacetylureid. Das Bromural ist chemisch
Bromisovaleryanylharnstoff. Als bromfreies Carhamid wurde
das Allylisopropylacetylcarbamid

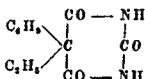


als Sedativum vorgeschlagen. Unter den ringförmigen Ureiden
finden wir fast alle unsere modernen Schlafmittel. Ausgangs-
punkt der chemischen Synthese war die von Emil Fischer 1903
dargestellte Diaethylharbitursäure, das Veronal:



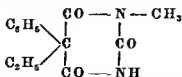
Es ist auch heute noch eines der meist gebrauchten und he-
kannten Schlafmittel.

Durch Variation der beiden Aethylgruppen im Veronal mit allen möglichen Alkyl-, Alkylen-, Alkynyl-, Aalkyl- und Arylresten hat man mehrere hundert Schlafmittel dargestellt, von denen jedoch im großen und ganzen nur die im Folgenden angeführten Abkömmlinge größere Bedeutung erlangt haben. Mit dem „Luminal“, der Phenylaethylbarbitursäure, wurde 1912 von *Hörlein* nicht nur ein neues Schlafmittel, sondern auch ein Antiepilepticum geschaffen, das immer noch zu den meist angewandten Mitteln zählt. Das Amytal, die Isoamylaethylbarbitursäure, hat besonders in Amerika Eingang gefunden. Die Diallylbarbitursäure konnte sich offenbar infolge seiner Nebenwirkung nicht einbürgern. Das Nektal ist eine Isepropylbrompropenylbarbitursäure und das Semnifen ist die Isoprenylallylbarbitursäure, um nur einige zu nennen. Die weitere Entwicklung dieser Reihe führte zum Phanodorm, der Cyclohexenylaethylbarbitursäure:



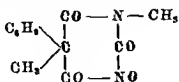
die wegen ihrer milden Wirkung und guten Verträglichkeit besonders geschätzt wird.

Die zur dritten Untergruppe gebörenden Vertreter sind erst in der letzten Zeit entstanden. Durch Methylierung eines Stickstoffatoms der Barbitursäure wurde hier ein bedeutender Fortschritt erzielt. Die Synthese der N-Methylphenylaethylbarbitursäure, des Prominal, das also ein methyliertes Luminal darstellt,



setzt zwar die schlafmachende Wirkung des Luminal herab, dafür sind aber seine Eigenschaften als Antiepilepticum in besonders erwünschtem Maße weiter vervollkommenet. Dasselbe

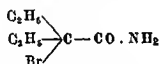
chemische Verfahren wurde auch auf das Phanodorm übertragen und im Evipan, der Cyclohexenylmethyl-N-methyl-barbitursäure:



wurde nicht nur ein gutes Einschlafmittel, sondern auch in Form seines Natriumsalzes ein injizierbares Narkoticum geschaffen, das heute schon für die kurze Narkose allgemeine Verwendung gefunden hat.

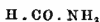
7. Säureamide.

Das erste Saureamid, das als Schlafmittel Bedeutung erlangt hat, war das Neuronal, das Diaethylbromessigsäureamid:

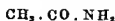


das aber trotz seiner guten Verträglichkeit bald wieder verlassen worden ist. Vor einigen Jahren wurde das Neodorm als mildes Sedativum ausgehen. Es stellt chemisch das α -Isopropyl- α -brombutyramid dar.

Wir hatten uns schon vor längerer Zeit den Ausbau dieser an und für sich nur wenig erforschten Gruppe der Schlafmittel zur Aufgabe gestellt. Es ist bekannt, daß Formamid

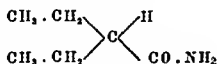


keine sedative Wirkung zeigt und diese auch nicht haben kann, da ihm ein wesentlicher Teil der hypnophoren Gruppe fehlt. Dagegen beobachtet man beim Essigsäureamid

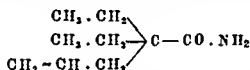


schon geringe schlafmachende Wirkung, die sich durch Einführung einer Aethylgruppe, also beim Amid der Buttersäure, dem Aethylessigsäureamid, steigern läßt (*H. H. Meyer* und

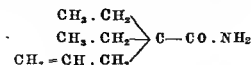
Nebellthau). Und diese Wirkung wird durch die Einführung einer zweiten Aethylgruppe, also beim Diaethylessigsäureamid



noch weiter verstärkt. Es war also die Möglichkeit gegeben, daß durch die Einführung einer dritten Alkylgruppe sich noch wirksamere Substanzen erhalten ließen. Während nun aber dialkylierte Essigsäureamide leicht synthetisch dargestellt werden können, stellen sich der Synthese trialkylierter, z. B. folgender Verbindung:

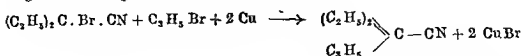


ganz erhebliche Schwierigkeiten in den Weg. Nachdem schließlich aber die Synthese solcher trialkylierter Essigsäureamide gelungen war, zeigte die pharmakologische Prüfung, daß sie auch alle erwarteten Eigenschaften in hohem Maße erfüllten. Als bald ergab sich im Diaethylallylessigsäureamid ein Schlafmittel, das bei außerordentlich rascher Einschlafzeit, ausreichender Schlaf-tiefe und Schlafdauer sowie kurzer Ausscheidungszeit alle Anforderungen, die überhaupt an ein Schlafmittel gestellt werden können, erfüllt. Leider hatten aber diese trialkylierten Essig-säuren zunächst nur wissenschaftliche Bedeutung, weil ihre Dar-stellung zu teuer war, um sie als konkurrenzfähige Schlafmittel in den Handel zu hringen. Schließlich ist es aber doch in den Hoechst Laboratorien gelungen, eine sowohl wissenschaftlich sehr interessante als auch technisch wertvolle und brauchbare Methode aufzufinden, um ganz allgemein tertiäre Säureamide darzustellen, von denen Diaethylallylacetamid

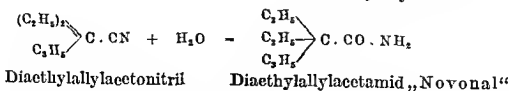
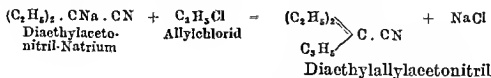
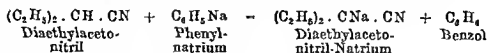


das „Novonal“, dem Handel übergeben wurde.

Die Synthese tertiärer Säureamide wurde anfänglich auf folgendem Wege durchgeführt, z. B.:



d. h. Diaethylbromacetonitril wurde mit Allylbromid und Kupferpulver erhitzt, wobei neben anderen Reaktionsprodukten das Diaethylallylacetonitril entsteht, das sich durch Anlagerung von Wasser zum Amid aufbauen läßt. Es zeigte sich aber bald, daß man zweckmäßiger zum Ziel kommen kann, wenn man die Natriumverbindung des Diaethylacetonitrils darstellt und diese dann mit Allylchlorid umsetzt, da hierbei Nebenreaktionen weitestgehend vermieden werden. Blieb als Problem nur noch die rationelle Darstellung des Natriumdiaethylacetonitrils. Auch das gelang. Es läßt sich nämlich entgegen allen Angaben der chemischen Literatur, z. B. aus Chlorbenzol und Natrium, unter geeigneten Bedingungen Phenylnatrium darstellen, und damit hat man eine Natriumverbindung in der Hand, die äußerst reaktionsfähig ist und ihr Natrium z. B. sehr leicht auf andere Verbindungen, insbesondere auch auf sekundäre Nitrile, überträgt. Der ganze Prozeß zur Darstellung des Diaethylallylacetonitrils sieht dann folgendermaßen aus:



Durch diese Synthese ist es also zum ersten Male gelungen, ein tertiäres Säureamid unter Bedingungen darzustellen, die seine allgemeine Verwendung ermöglichen.

Vom Cocain zum Pantocain

Der Werdegang der örtlichen Betäubung

DR. O. EISLER

Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Hoechst

Der Wunsch, die Schmerzen zu lindern, ist so alt wie die Menschheit. Schon in den frühesten schriftlichen Überlieferungen der Ägypter und der Chinesen wird über die Erzeugung von künstlichem Schlaf durch gewisse Pflanzensäfte berichtet; dieselben benutzte man auch, um Schmerzen bei chirurgischen Eingriffen zu lindern; es ist jedoch kaum anzunehmen, daß während eines durch *Cannabis indica*, Schierling, Bilsenkraut, Mandragora- oder Mohnsaft hervorgebrachten Rausches die Gefühllosigkeit eine vollkommene war, wollte man den Patienten nicht der Gefahr einer tödlichen Vergiftung aussetzen.

Auch von örtlich schmerzlindernden Mitteln wird schon im Altertum berichtet, die Angaben darüber lassen es aber als ziemlich sicher erscheinen, daß diese nur durch Suggestion und nicht spezifisch gewirkt haben werden. Wirksamer für die Schmerzlinderung war die auch im Altertum bekannte Methode, durch Kompression der Nervenstämmen den Schmerz beispielsweise bei Absetzung von Gliedmaßen aufzuheben, man nahm dafür allerdings den Schmerz an einer anderen Stelle in Kauf. Die Abkühlung der Gewebe durch Schnee als Schmerzbetäubungsmittel ist seit Mitte des 16. Jahrhunderts bekannt.

Die eigentliche Verhreibung von brauchbaren und zweckentsprechenden Methoden für die Schmerzbetäubung beginnt erst um die Mitte des 19. Jahrhunderts. Im Jahre 1846 wurde von *W. T. G. Morton* der Äthyläther, eine schon im 16. Jahrhundert bekannte chemische Substanz, zum ersten Male zum Hervorrufen von Narkose bei chirurgischen Operationen verwandt. Die örtliche Betäubung durch ein chemisches Mittel

nimmt ihren Anfang erst 1884 mit der Einführung des Cocains durch *K. Koller* zur Unempfindlichmachung bei Augenoperationen; allerdings hatte man schon früher zum Zwecke der örtlichen Betäubung ungeeignete Präparate wie Chloroform und Morphin oder gewehrszerstörende wie Phenol anzuwenden versucht.

Das Cocain war 1860 aus der Cocapflanze in reinem Zustande isoliert worden. *Wöhler* hatte in seinen Veröffentlichungen darüber die Wirkung desselben mit den Worten beschrieben: „Schmeckt bitterlich und übt auf die Zungennerven die eigentümliche Wirkung aus, daß die Berührungsstelle wie betäubt, fast gefühllos wird.“ Heute erscheint es uns verwunderlich, daß diese Beobachtung, obwohl sie in Veröffentlichungen mehrfach erwähnt wurde, in den folgenden 24 Jahren nicht zu einer allgemeinen praktischen Ausnutzung geführt hat.

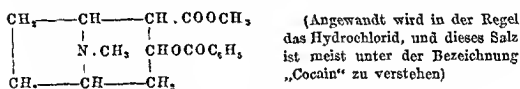
Erst seit 1884 hat sich eine unaufhaltsam rasche Entwicklung auf dem Gebiete der örtlichen Schmerzbetäubung vollzogen. Die Methodik des Vorgehens zum Zwecke der örtlichen Betäubung wurde den vielseitigen Anforderungen der Chirurgie angepaßt. Von der Aufbringung des Anaestheticums auf die Schleimhaut und auf die Wundfläche (der Oberflächenanaesthesie) schritt man zu Methoden, die eine größere Tiefenwirkung zustande kommen lassen, angefangen mit der Infiltrationsanaesthesie, die *Reclus* 1890 in Frankreich, *Schleich* 1891 in Deutschland entwickelte, fortgeführt durch die Umspritzung von *Hackenbruch* 1897, die Einspritzung in den Nerv, von den amerikanischen Chirurgen *Crile*, *Matas* und *Cushing* ausgeführt, den Suprareninzusatz von *H. Braun* 1902, und endigend mit der Lumbalanaesthesie von *Bier* 1899 und der Sakralanaesthesie von *Lawen*.

Seit der praktischen Ausnutzung des Cocains setzte aber auch ein systematisches Zusammenarbeiten von Chemikern und Ärzten ein, indem man sich die Aufgabe stellte, die Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und arzneilicher

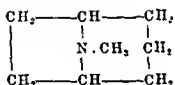
Wirkung aufzuklären. Dazu dient bekanntlich einerseits die genauoKonstitutionsaufklärung der in der Natur vorkommenden arzneilich wirksamen Stoffe, andererseits die pharmakologische Prüfung synthetischer Substanzen von ähnlichem Aufbau. Daß dieses Zusammenarbeiten gerade bei der Klasse der Lokalanaesthetica am ersten greifbare Erfolge brachte, liegt einmal daran, daß das als Ausgangsstoff dienende Cocain chemischen Eingriffen sehr zugänglich ist und mit milden Mitteln Abbauprodukte liefert, die der Ausgangssubstanz noch genügend nahe stehen, zum anderen, daß die lokalanaesthetisierende Wirkung neuer synthetisierter Substanzen sehr leicht ohne viel Zeitaufwand und kostspieliges Versuchsmaterial feststellbar ist.

Die Frage nach den Zusammenhängen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung hat nun zwar im allgemeinen, je mehr Tatsachenmaterial zusammengetragen wurde, um so eindeutiger die Beantwortung gefunden: es gibt keine allgemein gültigen Regeln, die bei Vorhandensein einer bestimmten Gruppierung in einer organischen Substanz bei dieser eine bestimmte pharmakologische Wirkung vorsehen lassen, so wie man die Farbstoffeigenschaften organischer Substanzen geradezu aus der Konstitutionsformel ablesen kann. Wir kennen heute Substanzen aus den verschiedenartigsten organischen Körperklassen mit den verschiedensten funktionellen Gruppen, die lokalanaesthetisierend wirken. Trotzdem hat das systematische Vorgehen in der Frage nach den Zusammenhängen beim Cocain eine Anzahl von Zusammenhängen bei näher verwandten Körpern zutage gefördert, die *P. Ehrlich* veranlaßten, von „anaesthesiophoren“ Gruppen zu sprechen. Als „Arbeitstheorien“ haben sich die Kenntnisse von solchen Zusammenhängen zwar nicht durchgängig bewährt, jedoch haben sie die Arzneimittelsynthese im allgemeinen mächtig angeregt und haben sich im besonderen beim Aufbau von lokalanaesthetisierenden Mitteln sogar als recht nützlich erwiesen. Es lohnt sich deshalb, die Entwicklung bei diesen etwas näher zu betrachten.

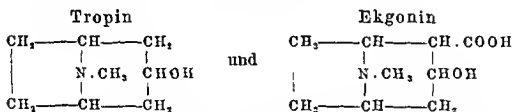
Die Aufklärung der Konstitution des Cocains, das von Wöhler und seinen Schülern *Niemann* und *Lossen* in reinem kristallisiertem Zustande dargestellt worden ist, wurde von diesen bis zu der Aufstellung der Summenformel $C_{17}H_{21}O_4N$ und dem Abbau zu Ekgonin, Benzoesäure und Methylalkohol gefördert; erst *Willstätter* gelang es im Jahre 1898 die genaue Formel aufzustellen, nachdem in der Zwischenzeit viel Vorarbeit von Forschern wie u. a. *Ladenburg*, *Liebermann*, *Merling* und *Einhorn* geleistet worden war. Die Formel des Cocains ist:



ihm liegt das konjugierte Ringsystem Tropan



zugrunde, dessen Substitutionsprodukte



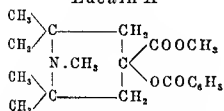
sind. Aus dem Ekgonin entsteht also das Cocain, indem man die Carboxylgruppe mit Methylalkohol und die Hydroxylgruppe mit Benzoesäure verestert. Bei der Leichtigkeit, mit der im Cocain die funktionellen Gruppen sich abspalten und durch andere ersetzen lassen, war bequemer die Möglichkeit gegeben, der Frage, welche Gruppierung für die anaesthesierende Wirkung wesentlich ist, näherzutreten. Es zeigte sich: Ekgonin ist unwirksam, die Benzoylgruppe allein im Benzoylekgonin bringt auch noch keine nennenswerte Wirkung hervor, dazu muß gleichzeitig das Carboxyl mit Methyl- oder einem anderen Alkohol verestert werden;

Wirkung aufzuklären. Dazu dient bekanntlich einerseits die genaue Konstitutionsaufklärung der in der Natur vorkommenden arzneilich wirksamen Stoffe, andererseits die pharmakologische Prüfung synthetischer Substanzen von ähnlichem Aufbau. Daß dieses Zusammenarbeiten gerade bei der Klasse der Lokalanaesthetica am ersten greifbare Erfolge brachte, liegt einmal daran, daß das als Ausgangsstoff dienende Cocain chemischen Eingriffen sehr zugänglich ist und mit milden Mitteln Abbauprodukte liefert, die der Ausgangssubstanz noch genügend nahestehen, zum anderen, daß die lokalanaesthetisierende Wirkung neuer synthetisierter Substanzen sehr leicht ohne viel Zeitaufwand und kostspieliges Versuchsmaterial feststellbar ist.

Die Frage nach den Zusammenhängen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung hat nun zwar im allgemeinen, je mehr Tatsachenmaterial zusammengetragen wurde, um so eindeutiger die Beantwortung gefunden: es gibt keine allgemein gültigen Regeln, die bei Vorhandensein einer bestimmten Gruppierung in einer organischen Substanz bei dieser eine bestimmte pharmakologische Wirkung voraussetzen lassen, so wie man die Farbstoffeigenschaften organischer Substanzen geradezu aus der Konstitutionsformel ablesen kann. Wir kennen heute Substanzen aus den verschiedenartigsten organischen Körperklassen mit den verschiedensten funktionellen Gruppen, die lokalanaesthetisierend wirken. Trotzdem hat das systematische Vorgehen in der Frage nach den Zusammenhängen beim Cocain eine Anzahl von Zusammenhängen bei näher verwandten Körpern zutage gefördert, die *P. Ehrlich* veranlaßten, von „anaesthesiophoren“ Gruppen zu sprechen. Als „Arbeitstheorien“ haben sich die Kenntnisse von solchen Zusammenhängen zwar nicht durchgängig bewährt, jedoch haben sie die Arzneimittelsynthese im allgemeinen mächtig angeregt und haben sich im besonderen beim Aufbau von lokalanaesthetisierenden Mitteln sogar als recht nützlich erwiesen. Es lohnt sich deshalb, die Entwicklung bei diesen etwas näher zu betrachten.

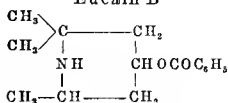
Die Frage, ob das Tropanringsystem für die anaesthetisierende Wirkung notwendig ist, konnte durch synthetischen Aufbau von verwandten zyklischen Gebilden verneint werden. Es waren dies die Eucaine:

Eucain A



und

Eucain B

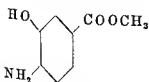


1896 von *Merling* dargestellt und von *Vinci* untersucht. Immerhin war in diesen die strukturelle Ähnlichkeit mit dem Tropin noch weitgehend nachgeahmt. Die Eucaine zeigen eine dem Cocain gleichkommende anaesthetisierende Wirkung, aber sie bewirken nicht Ischämie, sondern Hyperämie, die gefäßverengende Wirkung von gleichzeitig angewandtem Suprarenin wird mehr oder weniger aufgehoben.

Die Blutdruckwirkung des Cocains und auch sein Rauschgiftcharakter hängt mit der physikalischen Feinstruktur zusammen. Das gewöhnliche Cocain ist optisch linksdrehend. Das *Willstättersche* d, ψ-Cocain und die Psikaine von *E. Merck* zeigen die Blutdruckwirkung nicht.

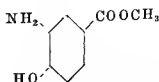
Die weitere Synthese örtlich betäubender Mittel wurde in der folgenden Zeit auf eine vollkommen neue Grundlage gestellt durch die Beobachtung von *Einhorn* und *Heinz*, daß Amino-oxybenzoesäureester anaesthetisierend wirken; zwei davon wurden in die Therapie eingeführt:

Orthoform



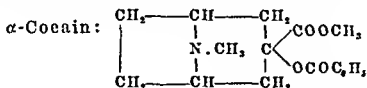
und

Orthoform neu

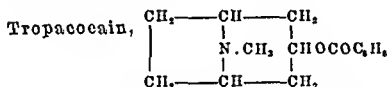


Etwas später wurde von *Ritsert* 4-Aminobenzoessäureaethylester als „Anaesthesin“ herausgebracht. Diese drei Verbindungen weisen wegen ihrer Unlöslichkeit in Wasser gegenüber dem Cocain

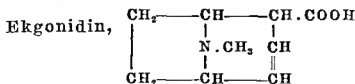
Ersatz der Benzoylgruppe durch andere Säureradikale ergibt Produkte von zumeist schwächerer Wirkung. Die Stellung der Carboxylgruppe und der Benzoylgruppe am Tropanring ist wesentlich. Ein von *Willstätter* dargestelltes



erwies sich (befremdlich genug! Vergleiche später Eucain A) als unwirksam. Wird das tertiäre Stickstoffatom des Ringsystems, das die Methylgruppe trägt, durch Abspaltung derselben in ein sekundäres übergeführt, so ist die Wirkung gegenüber der des Cocains sogar etwas gesteigert. Durch Addition von Methyljodid an das tertiäre N-Atom des Cocains wird die Wirkung dagegen aufgehoben. Das



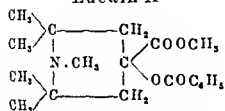
ein 1891 aus einer Abart der Cocapflanze gewonnenes Alkaloid, das von *Willstätter* 5 Jahre später auch synthetisiert wurde, zeigt eine dem Cocain nabekommende Wirkung bei etwas geringerer Giftigkeit. Das Carboxymethyl des Cocains ist also als Ganzes nicht wesentlich für die anaesthesierende Wirkung. Durch Abspaltung von Wasser aus Ekgonin erhält man das



dessen Ester erzeugen keine Anaesthesie, durch Ersatz der am Stickstoff haftenden Methylgruppe des Ekgonidinaethylsters durch den Rest $-\text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2\text{O} \cdot \text{COC}_6\text{H}_5$, stellten *v. Braun* und *Müller* das Ekkain dar, das das Cocain bezüglich anaesthesierender Kraft noch übertreffen soll.

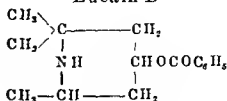
Die Frage, ob das Tropanringsystem für die anaesthetisierende Wirkung notwendig ist, konnte durch synthetischen Aufbau von verwandten zyklischen Gebilden verneint werden. Es waren dies die Eucaine:

Eucain A



und

Eucain B

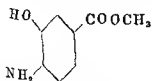


1896 von *Merling* dargestellt und von *Vinci* untersucht. Immerhin war in diesen die strukturelle Ähnlichkeit mit dem Tropin noch weitgehend nachgeahmt. Die Eucaine zeigen eine dem Cocain gleichkommende anaesthetisierende Wirkung, aber sie bewirken nicht Ischämie, sondern Hyperämie, die gefäßverengende Wirkung von gleichzeitig angewandtem Suprarenin wird mehr oder weniger aufgehoben.

Die Blutdruckwirkung des Cocains und auch sein Rauschgiftcharakter hängt mit der physikalischen Feinstruktur zusammen. Das gewöhnliche Cocain ist optisch linksdrehend. Das *Willstättersche* d, *ψ*-Cocain und die Psikaine von *E. Merck* zeigen die Blutdruckwirkung nicht.

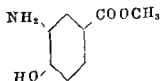
Die weitere Synthese örtlich betäubender Mittel wurde in der folgenden Zeit auf eine vollkommen neue Grundlage gestellt durch die Beobachtung von *Einhorn* und *Heinz*, daß Amino-oxybenzoesäureester anaesthetisierend wirken; zwei davon wurden in die Therapie eingeführt:

Orthoform



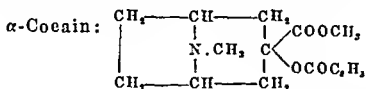
und

Orthoform neu

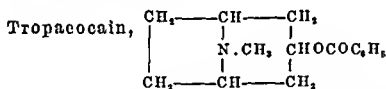


Etwas später wurde von *Riltser* 4-Aminobenzoesaureaethylester als „Anaesthesin“ herausgebracht. Diese drei Verbindungen weisen wegen ihrer Unlöslichkeit in Wasser gegenüber dem Cocain

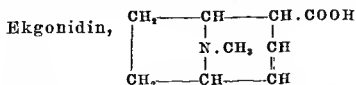
Ersatz der Benzoylgruppe durch andere Säureradikale ergibt Produkte von zumeist schwächerer Wirkung. Die Stellung der Carboxylgruppe und der Benzoylgruppe am Tropanring ist wesentlich. Ein von *Willstätter* dargestelltes



erwies sich (befremdlich genug! Vergleiche später Eucain A) als unwirksam. Wird das tertiäre Stickstoffatom des Ringsystems, das die Methylgruppe trägt, durch Abspaltung desselben in ein sekundäres übergeführt, so ist die Wirkung gegenüber der des Cocains sogar etwas gesteigert. Durch Addition von Methyljodid an das tertiäre N-Atom des Cocains wird die Wirkung dagegen aufgehoben. Das

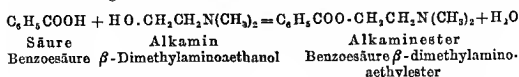


ein 1891 aus einer Abart der Cocapflanze gewonnenes Alkaloid, das von *Willstätter* 5 Jahre später auch synthetisiert wurde, zeigt eine dem Cocain nahekommende Wirkung bei etwas geringerer Giftigkeit. Das Carboxymethyl des Cocains ist also als Ganzes nicht wesentlich für die anaesthetisierende Wirkung. Durch Abspaltung von Wasser aus Ekgonin erhält man das



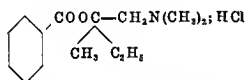
dessen Ester erzeugen keine Anaesthetie, durch Ersatz der am Stickstoff haftenden Methylgruppe des Ekgonidinaethylesters durch den Rest $-\text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2\text{O} \cdot \text{COC}_6\text{H}_5$, stellten *v. Braun* und *Müller* das Ekkain dar, das das Cocain bezüglich anaesthetisierender Kraft noch übertreffen soll.

zur Grundlage zu haben, und zwar waren alle drei Alkaminester, hervorgegangen aus der Veresterung einer aromatischen Säure mit einem Alkamin, d. h. einem Alkohol, der neben der Hydroxylfunktion auch eine Amino-, und zwar eine tertiäre Aminofunktion, aufweist. Zur Veranschaulichung der Entstehung diene die Gleichung für das einfachste Beispiel eines Alkaminesters:

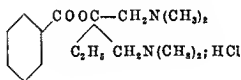


Es waren dies:

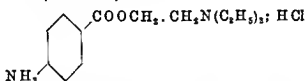
Stovain (*Fourneau*)



Alypin (*F. Hofmann*)

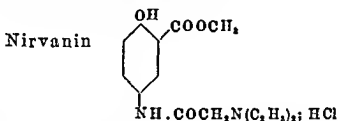


und Novocain (*Einhorn*)



Von diesen drei Substanzen ist Novocain (4-Aminobenzoesäure β -diaethylaminoäthylestermonohydrochlorid) wegen seiner geringen Giftigkeit, völligen Reizlosigkeit im subkutanen Gewebe und seiner außerordentlich guten Verträglichkeit mit Suprarenin für die Leitungsanaesthesie das Mittel der Wahl geworden. In der Oberflächenanaesthesie konnte das Novocain das Cocain nicht verdrängen. Während Stovain und Alypin auf der Zunge eine stärkere Wirkung als Novocain zeigen, tritt dieses bei der Leitungsanaesthesie nicht in Erscheinung, sowie zur Verzögerung der parenchymatösen Resorption Suprarenin zugesetzt wird. *H. Braun* schreibt: „Für das Novocain hat der Suprarenin-Zusatz die außergewöhnliche Bedeutung, daß das Mittel erst durch diesen Zusatz zu einem brauchbaren Betäubungsmittel gemacht wird, da seine örtliche Wirkung ohne den Zusatz zu flüchtig ist“.

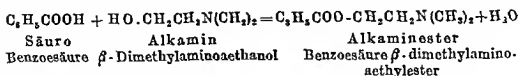
wesentliche Unterschiede auf. Sie entfalten ihre velle Wirkung nur an Stellen, wo sie in unmittelbarem Kontakt mit den Nervenenden kommen. Auf der Schleimhaut lassen sie die Tiefenwirkung vermissen. Sie eignen sich vorzüglich, um auf Wundflächen eine länger dauernde Schmerzlinderung herbeizuführen, zumal sie wenig reserbiert werden und daher sehr wenig giftig sind. Um diesen Substanzen durch eine geeignete Abwandlung größere Wasserlöslichkeit und damit die Anwendungsfähigkeit, wie sie das Cocain zuläßt, zu geben, konnte man nicht ihre mineralsauren Salze verwenden, da diese stark ätzen; *Einhorn* stellte deshalb zur Behebung dieses Fehlers das



dar; da es aber reizte und nicht die Tiefenwirkung des Cocains hatte, wurde es bald wieder zurückgezogen. Auch das 4-phenol-sulfosauro Anaesthesin, von *Ritser* unter dem Namen „Sub-outin“ gebraucht, zeigt lokalreizende Eigenschaften und schädigt, subkutan angewandt, das Gewebe. — *Ritser* hat die Beobachtung, daß der p-Aminobenzoesäureäthylester anaesthetisiert, übrigens schon im Jahre 1890 gemacht und im gleichen Jahre seine Entdeckung der chemischen Industrie zwecks Ausbeutung überlassen; da die Einführung aber bis 1902 nicht erfolgte, wurde der Allgemeinheit erst durch die *Einhorn*- und *Heinz*schen Veröffentlichungen in den Jahren 1900—1902 bekannt, daß eine große Zahl einfacher Ester aromatischer Carbonsäuren, so auch schon der gewöhnliche Benzoesäuremethylester, anaesthetisierend wirken. Das Bekanntwerden dieser Erkenntnis fachte die Arbeit mit dem Ziel der Herstellung eines Cocainersatzes allgemein an.

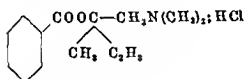
In den Jahren 1904—1905 erschienen gleich drei Lokalanaesthetica, die mehr oder weniger vollständig brauchbare Cocain-Ersatzmittel waren, ohne ein stickstoffhaltiges Ringsystem

zur Grundlage zu haben, und zwar waren alle drei Alkaminester, hervorgegangen aus der Veresterung einer aromatischen Säure mit einem Alkamin, d. h. einem Alkohol, der neben der Hydroxylfunktion auch eine Amino-, und zwar eine tertiäre Aminofunktion, aufweist. Zur Veranschaulichung der Entstehung diene die Gleichung für das einfachste Beispiel eines Alkaminesters:

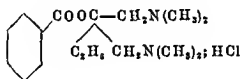


Es waren dies:

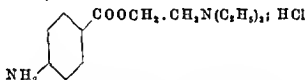
Stovain (*Fourneau*)



Alypin (*F. Hofmann*)



und Novocain (*Einhorn*)

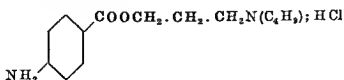


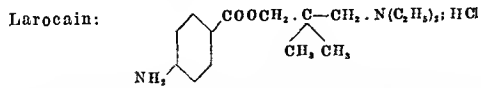
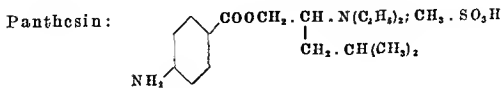
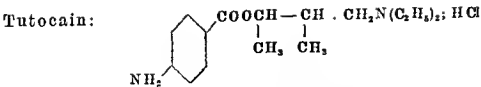
Von diesen drei Substanzen ist Novocain (4-Aminobenzoesäure β -diaethylaminoäthylestermonohydrochlorid) wegen seiner geringen Giftigkeit, völligen Reizlosigkeit im subkutanen Gewebe und seiner außerordentlich guten Verträglichkeit mit Suprarenin für die Leitungsanaesthesie das Mittel der Wahl geworden. In der Oberflächenanaesthesie konnte das Novocain das Cocain nicht verdrängen. Während Stovain und Alypin auf der Zunge eine stärkere Wirkung als Novocain zeigen, tritt dieses bei der Leitungsanaesthesie nicht in Erscheinung, sowie zur Verzögerung der parenchymatösen Resorption Suprarenin zugesetzt wird. *H. Braun* schreibt: „Für das Novocain hat der Suprarenin-Zusatz die außergewöhnliche Bedeutung, daß das Mittel erst durch diesen Zusatz zu einem brauchbaren Betäubungsmittel gemacht wird, da seine örtliche Wirkung ohne den Zusatz zu flüchtig ist“.

Die Unterschiede in der Wirkung der als Cocainersatz für die Oberflächenanaesthetie in Frago kommenden und empfohlenen Substanzen lassen sich sehr gut im Selbstversuch bei der Zungenprobe erkennen. Die Tiefenwirkung des Cocains zeigt sich darin, daß nicht nur die von der Lösung berührte Stelle der Zunge unempfindlich wird, sondern ein weiterer Umkreis darüber hinaus; im Gegensatz dazu zeigt beispielsweise das Percain und das Tutocain diese über die berührte Stelle im Umkreis sich ausdehnende Wirkung in geringem Maße, wofür dann aber die Wirkung an der betroffenen Stelle länger anhält. Bei der Hals- und Nasenchirurgie erscheint gerade das Ausblühen der Wirkung besonders wertvoll, da es oft nicht leicht ist, bei vielfach faltigen und winkeligen Operationsgebieten mit der anaesthetisierenden Lösung die Oberfläche wirklich vollkommen zu bestreichen. — Auch eine etwa vorhandene Reizwirkung läßt sich bei der Zungenprobe nach Abklingen der Anaesthetie deutlich durch das Gefühl und den Augenschein erkennen. Selbstverständlich macht diese Zungenprüfung den pharmakologischen Versuch am Auge nicht überflüssig, sondern ergänzt ihn nur. Das Novocain zeigt auf der Zunge ein äußerst schwaches Anaesthetisierungsvermögen, während es an der Cornea eine verhältnismäßig gute Wirkung aufweist; nur die Zungenprobe gestattet den für die Praxis richtigen Schluß zu ziehen, daß Novocain als Schleimhantanaestheticum nicht brauchbar ist.

Überblickt man die nach dem Novocain neu eingeführten Anaesthetica, so muß man feststellen, daß bei diesen bis auf ganz wenige Ausnahmen, zu denen das Percain gehört, die Struktur des Novocain $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ als Modell gedient hat. Und zwar ist immer eine Molekülvergrößerung in irgendeiner Form vorgenommen:

Butyn:





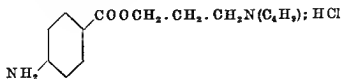
seien als wichtigste davon aufgezählt. Alle diese sind Ester der 4-Aminobenzoesäure. Die Variation ist in der Alkaminkomponente erfolgt, und da ist gemeinsam die Hinzufügung von mehrfach CH_2 . Die bei diesen Substanzen hervorgebrachte Intensitätssteigerung für die Leitungsanaesthesie gegenüber Novocain ist weniger ausschlaggebend, als die bei allen vorhandene Wirkung auf die Schleimhaut, die der des Cocains sich annähert. —

Die Arbeiten, die mit der Auffindung des Pantocain ihr Ziel fanden, gingen davon aus, zum Zwecke der Wirkungssteigerung die Säurekomponente des Novocain zu variieren. Dieses war schon von *Einhorn* und seinen Mitarbeitern begonnen worden, um für den Patentschutz des Novocain die notwendigen Abgrenzungen vorzunehmen. Man war dabei zu dem Resultat gekommen, daß alle Aminobenzoesäuren, Alkylaminobenzoesäuren, Aminotoluylsäuren, Diaminobenzoesäuren, Aminozimtsäuren geeignete Komponenten für Alkaminester mit lokalanaesthetisierender Wirkung sind, ohne daß man indessen eine Substanz unter diesen gefunden hätte, die nennenswerte Vorzüge vor dem Novocain aufwies. Nunmehr wurden statt der Aminobenzoesäuren zunächst Aminosäuren der Naphthalinreihe als Komponente verwendet, dann schritt man zu Carbonsäuren stickstoffhaltiger aromatischer Ringsysteme, wie Indol, Carbazol, Chinolin, Acridin. Aber die so gewonnene Molekülvergrößerung

Die Unterschiede in der Wirkung der als Cocainersatz für die Oberflächenanaesthetie in Frage kommenden und empfohlenen Substanzen lassen sich sehr gut im Selbstversuch bei der Zungenprobe erkennen. Die Tiefenwirkung des Cocains zeigt sich darin, daß nicht nur die von der Lösung berührte Stelle der Zunge unempfindlich wird, sondern ein weiterer Umkreis darüber hinaus; im Gegensatz dazu zeigt beispielsweise das Percain und das Tutocain diese über die berührte Stelle im Umkreis sich ausdehnende Wirkung in geringem Maße, wofür dann aber die Wirkung an der betroffenen Stelle länger anhält. Bei der Hals- und Nasenchirurgie erscheint gerade das Ausblühen der Wirkung besonders wertvoll, da es oft nicht leicht ist, bei vielfach faltigen und winkligen Operationsgebieten mit der anaesthetisierenden Lösung die Oberfläche wirklich vollkommen zu bestreichen. — Auch eine etwa vorhandene Reizwirkung läßt sich bei der Zungenprobe nach Abklingen der Anaesthetie deutlich durch das Gefühl und den Augensehein erkennen. Selbstverständlich macht diese Zungenprüfung den pharmakologischen Versuch am Auge nicht überflüssig, sondern ergänzt ihn nur. Das Novocain zeigt auf der Zunge ein äußerst schwaches Anaesthetisierungsvermögen, während es an der Cornea eine verhältnismäßig gute Wirkung aufweist; nur die Zungenprobe gestattet den für die Praxis richtigen Schluß zu ziehen, daß Novocain als Schleimhautanaestheticum nicht brauchbar ist.

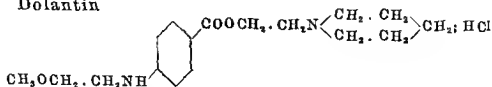
Überblickt man die nach dem Novocain neu eingeführten Anaesthetica, so muß man feststellen, daß bei diesen bis auf ganz wenige Ausnahmen, zu denen das Percain gehört, die Struktur des Novocain $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ als Modell gedient hat. Und zwar ist immer eine Molekülvergrößerung in irgendeiner Form vorgenommen:

Butyn:



zeigte bei der Prüfung eine Wirkung auf die Schleimhaut, die der des Cocains um das 20fache überlegen war, bei etwa 10facher Giftigkeit, und übertraf somit den Tetrahydrocbinolincarbonsäureester noch ganz erheblich. Da eine Reizwirkung bei den für die Praxis in Betracht kommenden Konzentrationen nicht erkennbar war, schien damit die Aufgabe der Auffindung eines vollkommenen Cocainersatzmittels gelöst zu sein, da, wie beim Novocain, die fehlende Blndruckwirkung durch die vorzügliche Kombinationsmöglichkeit mit Suprarenin ohne weiteres auch hervorgebracht werden konnte. Aber die Suche nach einem optimalen Mittel wurde noch nicht abgebrochen. Die primäre Aminogruppe des Novocain wurde mit allen möglichen Alkylen substituiert von Methyl bis Dodecyl, und dabei zeigte sich, daß bei dem Methylaminobenzoesäureester die Wirkung auf die Schleimhaut nur wenig größer ist als beim Novocain, daß sie besonders ansteigt von Aethyl nach Propyl, dann bei den längeren geraden Ketten bis Octyl ziemlich gleichmäßig stark bleibt, darauf aber rasch abfällt, so daß beim 4-Dodecylaminobenzoesäureester eine Wirkung auf der Zunge kaum mehr wahrnehmbar ist. Verzweigte Ketten, Isopropyl, Isoamyl, und ungesättigte wie Allyl, erwiesen sich als schlechter, und besonders auch zwei Alkyle in der Aminogruppe. Recht günstig zeigte sich die β -Methoxy-äthylgruppe, ein Körper dieser Reihe:

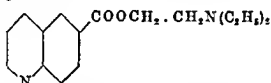
Dolantin



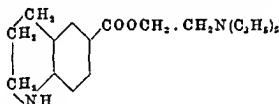
hat längere Zeit im Vordergrund der klinischen Prüfung gestanden.

Die gute schleimhautanaesthesierende Fähigkeit haben in annähernd gleichem Maße auch die Alkaminester der o-Alkylaminobenzoesäuren, während die der m-Alkylaminobenzoesäuren

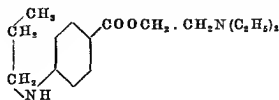
im Verhältnis zum Novocain brachte keine nutzbare Wirkungsverbesserung. Der weitere Verlauf der Arbeit wurde gelenkt durch Beobachtungen bei einer Anzahl von zu anderen chemotherapeutischen Untersuchungen bestimmten Chinolinabkömmlingen, die lokalanaesthetisierende Wirkungen, allerdings von mangelhafter Reversibilität, zeigten. Darunter befanden sich auch tetrahydrierte Chinoline, die anaesthetisierend wirkten, während die entsprechenden nicht hydrierten diese Eigenschaft nicht besaßen. Deshalb wurde nach dem Chinolin-6-carbonsäure- β -diäthylaminoäthylester



der schlecht wirkte, auch einmal der 1, 2, 3, 4-Tetrahydro-chinolin-6-carbonsäure- β -diäthylaminoäthylester



dargestellt und untersucht. Dieser zeigte eine ausgezeichnete schleimhautanaesthetisierende Wirkung: doppelt so giftig, doppelt so wirksam wie Cocain, ohne Gewebsschädigung. Die Struktur dieses Körpers gab den Anlaß, auf Substanzen, die früher im Zusammenhang mit dem Novocain untersucht worden waren, ohne daß eine diesem überlegene Wirkung derselben bekannt geworden wäre, zurückzukommen, nämlich die 4-Monoalkylaminobenzoessäureester; genauer geprüft war von diesen nur der Monomethylaminobenzoessäureester. Der nunmehr neu hergestellte 4-Propylaminobenzoessäure- β -diäthylaminoäthylester



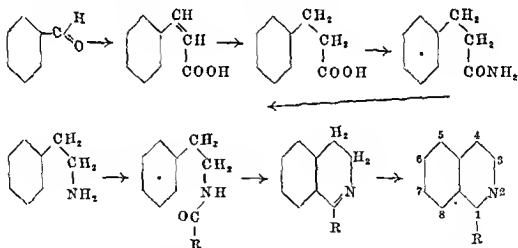
Versuche in der Isochinolinreihe

DR. HANS ANDERSAG

Aus dem Chemischen Forschungslaboratorium der I. O. Farbenindustrie AG,
Werk Elberfeld

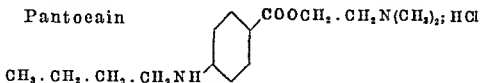
Die Isochinolinchemie hat in neuerer Zeit eine ausgedehnte Bearbeitung gefunden, und zwar hauptsächlich in Richtung des Benzylisochinolins, zu dem eine Reihe von wichtigen Naturstoffen, wie Papaverin und Morphin, gehören. Ersteres wurde von *Pictet* synthetisch dargestellt. Grundlegende Arbeiten zum künstlichen Aufbau von Isochinolinverbindungen wurden von *Decker* durchgeführt. Seine Methoden, modifiziert von *Pictet* und verbessert von *Späth*, dienen in der Folgezeit zur Synthese von Isochinolinen. *Späth* hat eine große Anzahl von Alkaloiden der Isochinolinreihe in ihrer Konstitution aufgeklärt und synthetisiert.

Der Gang der Synthese ist folgender:



Die einzelnen Phasen verlaufen mit guten Ausbeuten und führen von den Aldehyden in 4 Stufen zu den β -Phenyläthylaminen. Diese bilden das eigentliche Ausgangsmaterial zur ringsynthetischen Darstellung der Isochinoline und liefern über die Äthylverbindungen, mit kondensierenden Mitteln behandelt, zunächst Dihydroverbindungen, aus denen durch Behandlung mit

ungünstiger sind. — Nach vielfachem Variieren in der Alkamin-
komponente wurde schließlich



das 4-Butylaminobenzoesäure- β -dimethylaminoäthylester-mono-
hydrochlorid als günstigstes Präparat ausgewählt und seine
klinische Prüfung auf breitester Grundlage betrieben. Dabei
stellte sich heraus, daß es nicht nur als Schleimhautanaestheti-
um dasselbe leistet wie das Cocain, sondern auch in der Leitungs-
anaesthesie und besonders auch in der Lumbalanaesthesie vor
dem Novocain gewisse Vorzüge aufweist. Diese sind eine ver-
größerte Tiefenwirkung und die längeranhaltende Dauer der Un-
empfindlichkeit.

Wir haben somit im Pantocain ein Mittel gewonnen, das
für alle Zwecke der örtlichen Betäubung das Cocain nicht nur
vollwertig ersetzt, sondern noch übertrifft, denn es hat einen
mindestens doppelt so günstigen therapeutischen Index, seine
Beständigkeit in wässriger Lösung erlaubt ohne weiteres das
Sterilisieren derselben durch Kochen und es fehlt ihm vollkom-
men der Rauschgiftcharakter. Dieser Erfolg ist erreicht worden
durch systematische Nutzbarmachung von Forschungseresul-
taten; die Untersuchungen beim Cocain, die genaue Prüfung der
verschiedenartigen Aminobenzoesäureester und Beobachtungen
in anderen Körperklassen haben dazu den Weg gewiesen.

auch wenn sie hydriert wurden, sofern sie überhaupt Wirkung zeigten, an Hydrastinin und Papaverin.

Es war deshalb von Interesse, einerseits auf andere Isochinolinsynthesen zurückzugreifen, andererseits zu untersuchen, in welcher Weise das von der Gesellschaft für Teerverwertung in Duisburg-Meiderich gelieferte Isochinolin als Ausgangsmaterial zur Darstellung von Derivaten dienen könnte. Nach Arbeiten von *Claus* entsteht beim Nitrieren von Isochinolin eine Mononitroverbindung, der auf Grund der Oxydationsergebnisse — es bildet sich o-Nitro-phtalsäure — die Konstitution eines 8- oder 5-Substitutionsproduktes zugeschrieben wurde. Die Abkömmlinge dieser Mononitroverbindung sind in die Literatur als 8 Derivate aufgenommen worden.

Ich isolierte beim Nitrieren von Isochinolin drei Verbindungen. Als Hauptprodukt entsteht 5-Nitroisochinolin. Aus dem entsprechenden Amin (Fp. 133°) entsteht nach *Sandmeyer* in glatter Reaktion ein Chlorisochinolin vom Fp. 78°, das von dem nach *Pomeranz* aus 2-Chlorbenzaldehyd und Aminoacetal dargestellten 8-Chlorisochinolin vom Fp. 61° verschieden ist. Dadurch ist die 5-Stellung für das Nitroisochinolin hewiesen.

Hat man aus dem rohen Nitrierungsprodukt die Hauptmenge des 5-Derivates abgetrennt, so bleibt ein Gemisch zurück, das zweckmäßig durch Reduktion in Amine übergeführt wird. Daraus läßt sich leicht 8-Aminoisochinolin vom Fp. 171° isolieren. Die Konstitution geht daraus hervor, daß durch den Austausch der Aminogruppe gegen Chlor eine Verbindung entsteht, die mit synthetischem 8-Chlorisochinolin identisch ist. Die Nitrierung von Isochinolin verläuft somit analog der von Chinolin.

Aus den letzten Mutterlangen konnte durch wiederholte Kristallisation des Quecksilberchloriddoppelsalzes ein drittes Amin isoliert werden, dessen Identifizierung zunächst auf Schwierigkeiten stieß. Die Verbindung zeigte Fp. 110° und ließ sich in normaler Weise in die entsprechenden Chlor-, Brom- und Oxyverbindungen umwandeln. Diese ließen sich jedoch nicht mit

Oxydationsmitteln die Isochinoline erhalten werden. Der Ringschluß der Acylverbindungen zu den Dihydroisoechinolinverbindungen verläuft glatt:

1. Wenn in 6-Stellung Alkoxygruppen sitzen.

2. Obno Substituent im Phenylkern, wenn $R = \text{Alkyl}$, Aryl- oder Aralkyl bedonet. Die Synthese verläuft weniger glatt, wenn $R = H$ ist, und ebenso, wenn der Phenylkern andere Substituenten als Alkoxygruppen in 6-Stellung trägt. Die Darstellung halogensubstituierter Verbindungen verläuft beispielsweise wenig befriedigend. Die Dehydrierung der Dihydroverbindungen wird mit Palladium durchgeführt. Wie man aus dem Formelschema erkennt, sind zum Aufbau einer Isochinolinverbindung 7 Stufen nötig. Unter der Voraussetzung, daß sämtliche Reaktionen mit 80 % verlaufen, was aber keineswegs der Fall ist — speziell der Ringschluß geht, wie gesagt, nur in bestimmten Fällen glatt —, manchmal nur mit wenigen Prozenten, erhält man als Ausbente nur 21 % der Theorie, bezogen auf Aldehyd als Ausgangsmaterial. Zudem hat eine Oxydation mit Palladium nur wissenschaftliches Interesse. Ich fand, daß man in manchen Fällen das Palladium durch Schwefel ersetzen kann. Das 1-Methyl-3-4-dihydroisoechinolin wird durch Behandlung mit elementarem Schwefel glatt unter Entbindung von Schwefelwasserstoff zu 1-Methylisoechinolin dehydriert. Dasselbe Agens führte jedoch beim 1-Methyl-3-4-dihydro-6-methoxyisoechinolin nicht zum Ziele. Die Methoxygruppe wird durch den Schwefel angegriffen.

Aus dem Angeführten ersieht man, daß die Herstellung einer Isochinolinverbindung bestimmter Konstitution nach den üblichen Methoden langwierig ist. Trotzdem haben wir, ausgehend von Phenyläthylamin, 3-Methoxy-phenyläthylamin, 3-4-Dimethoxyphenyläthylamin und 3-4-Methylendioxyphenyläthylamin, eine Reihe von Dihydroisoechinolinen aufgebaut, wobei wir den Substituenten in 1-Stellung weitgehend variiert haben. Die pharmakologische Prüfung der Präparate hat keine besonderen Erfolge ergeben. Die Verbindungen erinnern in ihrer Wirkung,

auch wenn sie hydriert wurden, sofern sie überhaupt Wirkung zeigten, an Hydrastinin und Papaverin.

Es war deshalb von Interesse, einerseits auf andere Isochinolinsynthesen zurückzugreifen, andererseits zu untersuchen, in welcher Weise das von der Gesellschaft für Teerverwertung in Duisburg-Meiderich gelieferte Isochinolin als Ausgangsmaterial zur Darstellung von Derivaten dienen könnte. Nach Arbeiten von *Claus* entsteht beim Nitrieren von Isochinolin eine Mononitroverbindung, der auf Grund der Oxydationsergebnisse — es bildet sich o-Nitro-phtalsäure — die Konstitution eines 8- oder 5-Substitutionsproduktes zugeschrieben wurde. Die Abkömmlinge dieser Mononitroverbindung sind in die Literatur als 8 Derivate aufgenommen worden.

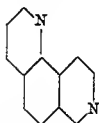
Ich isolierte beim Nitrieren von Isochinolin drei Verbindungen. Als Hauptprodukt entsteht 5-Nitroisochinolin. Aus dem entsprechenden Amin (Fp. 133°) entsteht nach *Sandmeyer* in glatter Reaktion ein Chlorisochinolin vom Fp. 78°, das von dem nach *Pomeranz* aus 2-Chlorbenzaldehyd und Aminoacetal dargestellten 8-Chlorisochinolin vom Fp. 61° verschieden ist. Dadurch ist die 5-Stellung für das Nitroisochinolin bewiesen.

Hat man aus dem rohen Nitrierungsprodukt die Hauptmenge des 5-Derivates abgetrennt, so bleibt ein Gemisch zurück, das zweckmäßig durch Reduktion in Amino übergeführt wird. Daraus läßt sich leicht 8-Aminoisochinolin vom Fp. 171° isolieren. Die Konstitution geht daraus hervor, daß durch den Austausch der Aminogruppe gegen Chlor eine Verbindung entsteht, die mit synthetischem 8-Chlorisochinolin identisch ist. Die Nitrierung von Isochinolin verläuft somit analog der von Chinolin.

Aus den letzten Mutterlaugen konnte durch wiederholte Kristallisation des Quecksilberchloriddoppelsalzes ein drittes Amin isoliert werden, dessen Identifizierung zunächst auf Schwierigkeiten stieß. Die Verbindung zeigte Fp. 110° und ließ sich in normaler Weise in die entsprechenden Chlor-, Brom- und Oxyverbindungen umwandeln. Diese ließen sich jedoch nicht mit

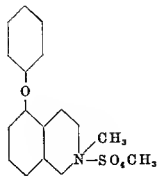
synthetisch hergestellten 6-, 7- und 4-Substitutionsprodukten des Isochinolins identifizieren. Das angewandte Isochinolin konnte vielleicht Homologo enthalten. Es wurde deshalb entamidiert, um die zugrunde liegende Base zu erhalten. Der Versuch verlief überraschend. Es resultierte Chinolin. Das Amin vom Fp. 110° war ein Chinolinderivat, und zwar 5-Aminochinolin. Die hergestellten Salze zeigten vollständige Identität. Das nach *Sandmeyer* erhaltene Bromderivat stimmt mit 5-Bromchinolin überein. Daraus geht hervor, daß das angewandte Isochinolin noch etwas Chinolin in kleiner Menge enthielt.

Aus 5-Aminoisochinolin wurde eine Reihe von Verbindungen hergestellt. Wir haben es basisch alkyliert, in der Annahme, vielleicht zu analog wirksamen Verbindungen wie in der Chinolinreihe zu gelangen. Dies war jedoch nicht der Fall. Die erhaltene Verbindung war wenig giftig, aber auch völlig unwirksam. Die Anwendung der *Skraup*sehen Synthese führte zu einem Iso-phenantrolin folgender Konstitution:



Aus 5-Hydrazinoisochinolin wurden Indolderivate hergestellt, die sich pharmakologisch indifferent erwiesen.

Weitere Verbindungen waren zugänglich aus 5-Chlorisochinolin. Dieses läßt sich nach *Ullmann* mit Phenol umsetzen zu 5-Phenoxyisochinolin. Addiert man daran Dimethylsulfat, so erhält man eine quaternäre Verbindung der Konstitution:

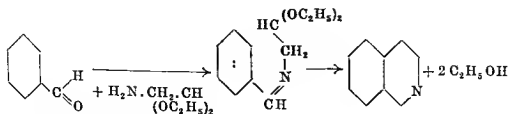


Das Präparat zeigt Uteruswirkung. Reduktion führt zum N-methyl-5-phenoxytetrahydroisochinolin, einer ebenfalls wirksamen Verbindung.

Behandelt man 5-Chlorisochinolin mit Salpetersäure, so erhält man eine Nitroverbindung, die für weitere Umsetzungen geeignet ist. Durch die Nitrierung ist das Halogen leicht beweglich geworden. Es läßt sich glatt durch basische Reste wie auch durch Äthergruppen ersetzen. Für die eingetretene Nitrogruppe konnte die 8-Stellung bewiesen werden. Durch Reduktion entsteht 5-Chlor-8-aminoisochinolin; daraus mit Kupferchlorür über die Diazoniumverbindung 5-8-Dichlorisochinolin vom Fp. 117°, identisch mit der Verbindung aus 2-5-Dichlorbenzaldehyd und Aminoacetal. Behandelt man 5-Chlor-8-nitroisochinolin mit alkoholischem Ammoniak, so erzielt man den Austausch des Halogens gegen die Aminogruppe. Die Eliminierung derselben, die zum 8-Nitroisochinolin hätte führen müssen, ist uns nicht gelungen.

Aus 5-Aminoisochinolin haben wir 5-Oxyisochinolin dargestellt und daraus einige Äther gewonnen. Mit Rücksicht auf die Tatsache, daß Morphin als ein in 5-Stellung veräthertes Isochinolinderivat aufgefaßt werden kann, schien eine Prüfung der Präparate auf analgetische Wirkung angebracht. Morphinähnliche Eigenschaften konnten jedoch nicht festgestellt werden.

Bei der Darstellung von Isochinolinverbindungen bestimmter Konstitution haben wir zurückgegriffen auf die Synthese von *Pomeranz*. Diese besteht darin, daß man aromatische Aldehyde mit Aminoacetal zu Benzylidenverbindungen kondensiert und daraus Alkohol abspaltet:

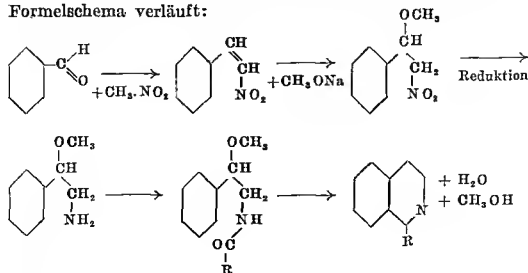


Die erste Phase verläuft quantitativ, der Ringschluß weniger gut.

Es wurden erzielt	bei:
8-Chlorisochinolin	18 %
7(5)-Chlorisochinolin	50 %
6-Chlorisochinolin	14 %
7-Methoxy-isochinolin	80 %
7-Diäthylamino-äthoxy-isochinolin	70 %
7-8-Dimethoxy-isochinolin	5 %
6-Methylisochinolin	21 %
6-Bromisochinolin	24 %
5-8-Dichlorisochinolin	35 %

Wie man sieht, sind hier die Ausbeuten bei den 7-Derivaten gut. In Anbetracht dessen, daß die Synthese ohne Zwischenprodukte (die Benzilidenverbindung braucht nicht isoliert zu werden) direkt vom Aldehyd zum Isochinolin führt, sind die Ausbeuten, die ja auch an die bei der Synthese aus β -Phenyläthylaminen erzielten heranreichen, zufriedenstellend. Einen Mangel weist die Synthese jedoch auf. Es ist uns nicht gelungen, aus Nitrobenzaldehyden zu den entsprechenden Nitroisochinolininen zu gelangen. Auch Variierung des Kondensationsmittels brachte keinen Erfolg. Nach Maßgabe der Beschaffung von Aminoacetal sind die Voraussetzungen für eine weitere systematische Untersuchung der Isochinoline gegeben.

Mannich beschreibt im Archiv für Pharmacie 265 (1927), Seite 1, eine Synthese von Isochinolininen, die nach folgendem Formelschema verläuft:

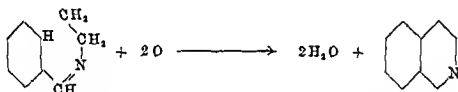


Nach diesem Verfahren haben wir dargestellt:

- 1-Methyl-6-methoxy-isoebinolin,
- 1-Methyl-5-6-dimethoxy-isochinolin,
- 1-(3'-4'-dimethoxy-) benzyl-5-6-dimethoxy-isochinolin,
- 1-(2'-3'-dimethoxy-) benzyl-5-6-dimethoxy-isochinolin.

Die zwei letzten Verbindungen sind isomer mit Papaverin, zeigen jedoch im Vergleich zu diesem nur geringe spasmolytische Wirkung. Die Synthese nach Mannich ist kürzer als die über die β -Phenyläthylamine. Sie verläuft in den Fällen, in denen die 6-Stellung Alkoxyreste trägt, mit guten Ausbeuten. Die Dehydrierung mit Palladium fällt weg.

Es wäre noch daran zu denken, ob nicht das Isochinolin selbst und seine Substitutionsprodukte auf pyrogenem, katalytischem Wege sich gewinnen ließen, wie man ja neuerdings verschiedene Basen darstellen kann, beispielsweise folgendermaßen:



Wenn wir die Resultate unserer Versuche zusammenfassen, so läßt sich sagen:

1. Beim Nitrieren von Isochinolin entstehen 5- und 8-Nitro-isochinolin.
2. Die Isochinolinsynthesen über β -Phenyläthylamine und mittels Aminoacetal ergänzen sich. Ersteres liefern 6-Substitutionsprodukte in guter Ausbeute, letztere 7-Derivate.
3. Die Synthese mit Aminoacetal verdient wegen ihrer Kürze den Vorzug.

Über eine neue Synthese des Ricinins

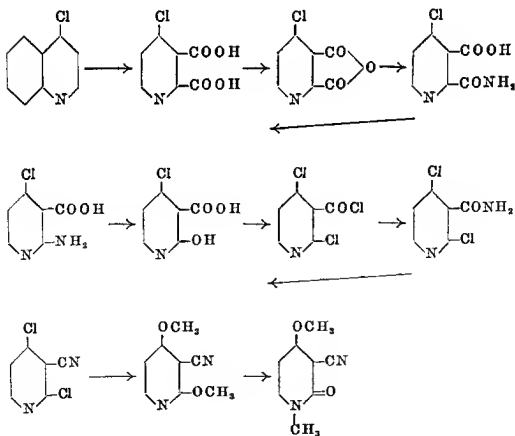
DR. JOACHIM REITMANN

Aus dem Chemischen Forschungslaboratorium der I. O. Farbenindustrie AG.,
Werk Elberfeld

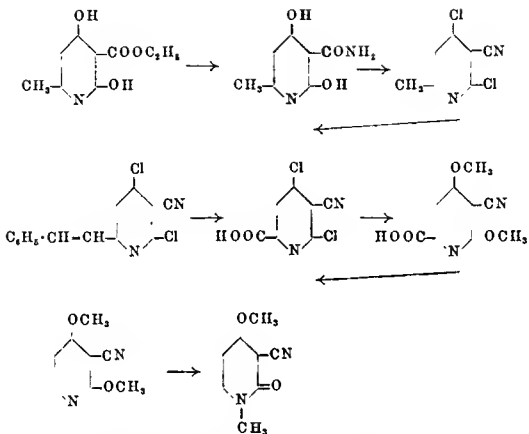
Das Ricinin, hekanntlich das Alkaloid der Rizinuspflanze, ist in neuerer Zeit hauptsächlich durch die Arbeiten von *Späth* und Mitarbeitern in den Vordergrund des Interesses gerückt worden.

Nachdem diese Forscher durch eingehende Untersuchungen das Ricinin in seiner Konstitution als 1-Methyl-3-cyan-4-methoxy-2-pyridon erkannt hatten, konnten *Späth* und *Koller* auch eine vollständige Synthese des Alkaloids ausführen, und zwar auf folgenden zwei Wegen (I und II).

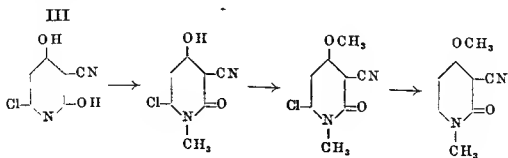
I



II



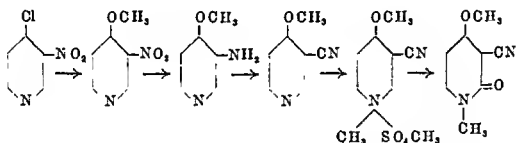
In jüngster Zeit (1932) ist nun von *Schroeter* und Mitarbeitern noch eine dritte Synthese (III) bekannt geworden, die sich besonders durch Einfachheit und Kürze auszeichnet. Als Ausgangsmaterial dient Cyanessigsäurechlorid, das im Laufe einiger Tage beim Stehen unter milder Kühlung zu einem Harz erstarrt, das zum großen Teil aus 2,4-Dioxy-6-chlor-3-nicotinsäurenitril besteht. Der weitere Verlauf der Synthese ist durch das Schema III veranschaulicht.



Alle oben genannten Synthesen gehen von Pyridinderivaten aus, in denen — ebenso wie im Ricinin selbst — die Stellungen 2, 3 und 4 bereits durch Substituenten besetzt sind, die dann durch Auf- oder Abbau so umgewandelt werden, wie sie im Ricinin vorliegen. Darüber hinaus muß in den Synthesen II und III noch ein überzähliger Substituent (Methyl bzw. Chlor) in 6-Stellung entfernt werden.

Im folgenden sei nun kurz eine einfache Synthese (IV) mitgeteilt, die insofern eine Sonderstellung einnimmt, als hier das dem Ricinin zugrundeliegende Ringskelett, das Pyridin, selber als Ausgangsmaterial benutzt und aus diesem durch stufenweises Heranbringen der Substituenten das Alkaloid aufgebaut wird.

IV



Zunächst wird aus Pyridin nach dem Verfahren von *Koenigs* und *Greiner* 4-Oxypyridin und aus diesem durch Nitrieren das ebenfalls schon bekannte 3-Nitro-4-oxypyridin dargestellt. Dieses läßt sich über das 4-Chlor-3-nitropyridin in 3-Nitro-4-methoxypyridin umwandeln.

Dann wird die Nitrogruppe reduziert und die so erhaltene Aminoverbindung auf dem Diazowege nach *Sandmeyer* in 3-Cyan-4-methoxypyridin verwandelt. Aus diesem erhält man in einem Arbeitsgang durch Quaternärmachen und nachfolgender Oxydation das Ricinin. Es erwies sich in Schmelzpunkt, Analyse und in den physikalischen Eigenschaften als identisch mit dem natürlichen Alkaloid.

Wenn auch das Ricinin selbst infolge seiner erheblichen Giftigkeit für eine therapeutische Anwendung wohl kaum in

Frage kommen dürfte, so ist mit dieser Synthese immerhin die Möglichkeit gegeben, die Substituenten weitgehend zu verändern.

So kann man nicht nur beliebige Alkylgruppen einführen, sondern darüber hinaus auch in 4-Stellung die Sauerstoffbrücke durch Stickstoff oder Schwefel ersetzen, je nachdem man Chlornitropyridin mit Aminen oder Mercaptoverbindungen zur Umsetzung bringt. Auch lassen sich statt der Cyangruppe auf dem Diazowege andere Substituenten in 3-Stellung einführen.

Die große Variationsmöglichkeit dieser Synthese läßt es daher vielleicht nicht ausgeschlossen erscheinen, daß mit ihrer Hilfe einmal pharmazentisch brauchbare Präparate erhalten werden.

Experimentelles.

1. 3-Nitro-4-chlorpyridin.

450 g Phosphorpentachlorid werden mit Phosphoroxychlorid überschichtet und auf dem Wasserbad auf etwa 60° erwärmt. In diese vorgewärmte Mischung werden portionsweise 280 g 3-Nitro-4-pyridon eingetragen und nach mehrstündigem Stehen auf dem Wasserbade wird das Phosphoroxychlorid im Vakuum abdestilliert. Dann wird der feste Rückstand mit Eiswasser versetzt und nach Überschichten mit Äther mittels Sodalösung die Base in Freiheit gesetzt. Nach Abtrennen der ätherischen Lösung und mehrmaligem Ausäthern wird der Äther abdestilliert und der Rückstand fraktioniert. Dabei geht das 3-Nitro-4-chlorpyridin unter 5 mm Druck bei 95° in hellgelbes Öl über, das alsbald zu Kristallen vom Fp. 45° erstarrt.

2. 3-Nitro-4-methoxyppyridin.

158,5 g Chlornitropyridin werden portionsweise in eine Auflösung von 23,5 g Natrium in 1 Liter Methylalkohol eingetragen, wobei Erwärmung eintritt. Nach dem Erkalten wird das gebildete Kochsalz abgetrennt und der Methylalkohol aus der Lösung abdestilliert. Der Rückstand wird mit etwa 3 Liter Äther aus-

gekocht, die Lösung mit Pottasche getrocknet, filtriert, vom Äther befreit und der Rückstand schnell fraktioniert. Das 3-Nitro-4-methoxypyridin geht dabei unter 1 mm Druck bei 127° in gelbes Öl über, das alsbald zu Kristallen vom Fp. 78° erstarrt.

Ein kleiner Anteil isomerisiert sich bei der Destillation zum N-Methyl-3-nitro-4-pyridon (Fp. 233°) und verbleibt als Rückstand im Kolben.

Dieselbe Umlagerung erfährt das 3-Nitro-4-methoxypyridin auch beim gewöhnlichen Erhitzen auf etwa 170°.

3. 3-Amino-4-methoxypyridin.

154 g der Nitroverbindung werden mit 750 g Eisen in 2 Liter Wasser unter Zusatz von 30 ccm Eisessig reduziert. Nach 3 Stunden wird mit fester Pottasche die Base gefällt und mit Äther-Alkohol-Gemisch aufgenommen. Kp. 134°, Fp. 83°.

4. 3-Cyan-4-methoxypyridin.

Zu einer heißen Lösung von 8,9 g CuCN in 10 g NaCN und 50 ccm Wasser läßt man unter Rühren eine gegen Congo neutralisierte Diazolösung laufen, die man sich aus 6,2 g 3-Amino-4-methoxypyridin durch Diazotieren mit der berechneten Menge Nitrit in verdünnter HCl bereitet hat.

Nach Beendigung der N₂-Entwicklung wird mit Pottasche gefällt, abgesaugt und der Rückstand mit Alkohol ausgekocht. Nach Abdampfen des Alkohols wird der Rückstand in verdünnter HCl gelöst, die Lösung filtriert und mit Ammoniak gefällt. Ans Wasser lange Nadeln vom Fp. 124°.

5. Ricinin.

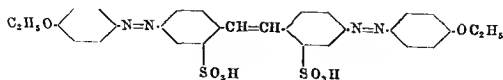
9 g 3-Cyan-4-methoxypyridin werden in benzolischer Lösung mit 10 g Dimethylsulfat versetzt und das Ganze eingedampft. Dann wird der sirupöse Rückstand in wenig Wasser gelöst, mit einer konzentrierten wässerigen Lösung von 44,5 g Ferricyankalium versetzt und nach guter Kühlung 14,6 ccm 50 % Natronlange dazugegeben. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt und ans Wasser umkristallisiert. Das so erhaltene Ricinin schmilzt bei 196°.

Die Bekämpfungsmittel von Pflanzenschädlingen in ihrer Beziehung zu Farb- und Arzneistoffen

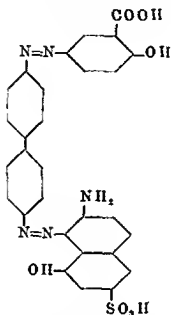
DR. WILH. BONRATH

Aus dem Biologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Leverkusen

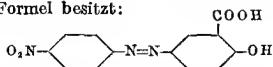
In der Mitte des vorigen Jahrhunderts setzte eine neue Epoche in der organischen Chemie ein. Den Ausgangspunkt bildete zweifelsohne der in den Kokereien anfallende Steinkohlenteer, der eine unersehöpflich fundgrube für aromatische Verbindungen darstellte. Besonders waren es seine sauren Bestandteile, die in erster Linie Phenol enthalten. Während man bis zu diesem Zeitpunkt in den Färbereien ausschließlich natürliche Farbstoffe benutzte, gelang es bald, von den Phenolen ausgehend, künstliche Farbstoffe herzustellen. Es ist das große Verdienst von *Peter Griess*, durch Kuppelung einer Diazoverbindung mit einem Phenol den ersten Azofarbstoff hergestellt und so das Fundament für die moderne Azofarbstoff-Chemie gelegt zu haben. Noch heute hat das Phenol und seine o-Carbonsäure, die Salicylsäure, als Zwischenprodukt für die Azofarbstoffe, die das größte Kontingent der Teerfarbstoffe bilden, große Bedeutung. Beide finden zur Herstellung von Baumwoll- und Wollfarbstoffen in reichem Maße Verwendung. Typische Vertreter dieser Reihe sind z. B. das Chrysophenin G und das Diaminechtrot F, zwei Diazofarbstoffe mit Affinität zur Baumwollfaser, von denen der erstere durch Kuppelung von einem Mol tetrazotierter Diamidostilhendisulfosäure mit 2 Mol Phenol und nachträglicher Äthylierung gewonnen wird. Seine Konstitution geht das folgende Formelhild wieder:



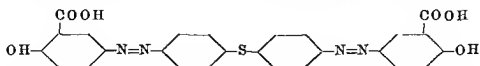
Das Diaminechtrot F ist ein Farbstoff von folgender Konstitution:



Es wird durch Kuppelung von 1 Mol tetrazotiertem Benzidin mit 1 Mol Salicylsäure und 1 Mol 2-Amido-8-naphthol-6-sulfosäure erhalten. — Besonders hervorzuheben ist die wichtige Eigenschaft der Salicylsäure, auch im Farbstoffmolekül auf Wolle gefärbt mit Metallverbindungen, z. B. Chromsalzen, Lacke zu bilden, die die Echtheit der Färbungen wesentlich erhöhen. Farbstoffe dieser Art sind das Alizarinengelb R, das durch Vereinigung von diazotiertem p-Nitranilin mit Salicylsäure hergestellt wird und folgende Formel besitzt:

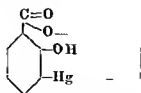


und das Anthracengelb C, das durch Kuppelung von 1 Mol tetrazotiertem Thioanilin mit 2 Mol Salicylsäure erhalten wird und durch nachstehende Konstitution wiedergegeben wird:



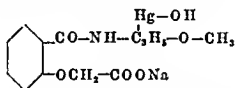
Beide Typen gehören dem bedeutungsvollen Sortiment der Chromierungsfarbstoffe an.

Nicht nur allein für die Herstellung von Farbstoffen, sondern auch für die Verwendung als Desinfektionsmittel hat das Phenol frühzeitig eine große Bedeutung erlangt. Bereits im Jahre 1867 hat *Lister* die Carbolsäure für die Wunddesinfektion eingeführt und so einen Markstein in der Geschichte der Medizin gesetzt. Wenn nun das Phenol heute nicht mehr die Bedeutung für die Desinfektion wie früher hat, so ist die Weiterentwicklung besonders auf die Arbeiten von *H. Bechold*, *Ehrlich* und schließlich *K. Laubenheimer* zurückzuführen, die durch Einführung von Halogen in das Phenolmolekül, besonders aber in seine Abkömmlinge wie Kresol und Xylenol, die bakterizide Wirkung wesentlich gesteigert haben. Die Überführung des Phenols in die Salicylsäure führte aber nicht nur zu einem wichtigen Zwischenprodukt für die Herstellung von Azofarbstoffen, sondern auch zur Herstellung von Arzneistoffen. Wenn auch heute die freie Salicylsäure als Bakterizid oder als Medikament nicht mehr von großer Wichtigkeit ist, so bildet sie doch das Ausgangsmaterial für zahlreiche Heilmittel und stellt die Muttersubstanz für die Acetylsalicylsäure dar, die in besonders reiner Form unter dem Namen Aspirin bei Fieberkrankheiten, Neuralgien und Schmerzen verschiedener Art Weltgeltung hat. Von den Salzen der Salicylsäure interessiert besonders die Hg-Verbindung, die den Grundtyp für eine Reihe wertvoller pharmazeutischer Verbindungen darstellt. Ursprünglich hat man diese Verbindung für ein gemeinschaftliches Hg-Salz der Carboxyl- und Phenolgruppe gehalten. Später ist es *Dimroth* gelungen, ihre Konstitution als Anhydrid einer Oxy-Hg-salicylsäure von folgender Formel aufzuklären:

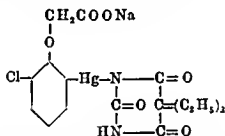


Heute ist die mereurierte Salicylsäure durch andere organische Hg-Verbindungen therapeutisch überbott. Vor allem ist es eines

ihrer Derivate, das durch Mercurierung des Salicyllallylamid-o-essigsanren Natriums in alkoholischer Lösung gewonnen wird und nachstehende Zusammensetzung hat:



Dieser Körper stellt die wirksame Komponente in dem Salyr-gan dar, das als Antilucticum und Diureticum in der inneren Therapie angewandt wird. Ein Arzneistoff mit demselben Indikationsgebiet ist das Novasurool. Chemisch kann man es als einen Abkömmling vom mercurierten Chlorphenol auffassen, bei dem die OH-Gruppo durch den umgekehrten Essigsäurerest gesperrt und die zweite Hg-Valenz durch den Veronalrest abgesättigt ist. Es entspricht folgender Konstitution:



Durch direkte Mercurierung von Chlorphenol gelangt man zu dem Chlorphenol-Quecksilber, das wegen seiner Unlöslichkeit in Wasser und der hohen Alkalität seiner löslichen Alkalisalze für therapeutische Zwecke nicht in Frage kommt. Es ist das große Verdienst von *G. Wesenberg*, dem ehemaligen Leiter des Bakteriologischen Laboratorinms der Pharmazeutischen Abteilung in Elherfeld, den Gedanken gehabt zu haben, die auf dem Desinfektionsgebiet mit den mercurierten Phenolen gesammelten Erfahrungen auf das Gebiet der Schädlingsbekämpfung, insbesondere der Saatgutbeizung zu übertragen und so ein wertvolles Nenland für die chemische Industrie zu erschließen. Bis zu diesem Zeitpunkt verwandte der Landwirt fast ausschließlich das von *Kühn* für die Saatgutdesinfektion eingeführte Kupfersulfat,

das ebenso wie das später eingeführte Formalin schon bei Innehaltung der Wirkungskonzentration je nach dem Zustande des Saatgutes leicht zu Beizschädigungen führte. Zwar hat es nicht an Versuchen gefehlt, das Phenol und die Salicylsäure auch für Beizzwecke auszuwerten. So hat schon im Jahre 1890 *Hellriegel* mit 1 %igen Phenollösungen günstige Wirkungen gegen den Wurzelhranderreger (*Phoma heliae*) erzielt, während die Salicylsäure in der gleichen Konzentration schlechter wirkte. Einen neuen Auftrieb erhielt die Beizfrage um die Jahrhundertwende durch *L. Hiltner*, der in seinen Arbeiten festgestellt hatte, daß das Auswintern des Getreides durch den *Fusarium*-Pilz, der dem Saatgut anhaftet, hervorgerufen wird. Im Verfolg dieser Erkenntnis gelang es ihm auch, im Sublimat ein Mittel gegen diesen Pilz zu finden. Diese grundlegende Entdeckung war für die weitere Entwicklung von besonderer Bedeutung und stellte den Anfang einer neuen Epoche dar, die man als die Quecksilber-epoche bezeichnen kann. Es ist das große Verdienst von *Hiltner*, den Wert des Sublimates als Beizmittel erkannt und es in die Praxis eingeführt zu haben. Die inzwischen von *Wesenberg* aufgenommenen Arbeiten ergaben, daß die mercurierten Phenole dem Sublimat in der Desinfektionskraft mindestens gleichwertig sind, ohne aber seine Nachteile, wie hohe Giftigkeit, schlechte Verträglichkeit, dem Saatgut gegenüber zu haben. Unter dem Namen Uspulun wurde im Jahre 1915 ein chlorphenolquecksilberhaltiges Beizmittel der Praxis übergeben, das nicht nur gegen Schneeschimmel (*Fusarium nivale*) und Steinrand des Weizens (*Tilletia tritici*), sondern auch gegen Streifenkrankheit der Gerste (*Helminthosporium gramineum*) — eine Krankheit, die bisher noch nicht zu bekämpfen war — wirkte. Die Einführung des mercurierten Chlorphenols in die Schädlingsbekämpfung bildete den Ausgangspunkt für die wichtigen organischen Quecksilberverbindungen, die heute noch auf dem Beizmittelgebiet das Feld beherrschen. Der Erfolg des Uspuluns in der Landwirtschaft spornte zur Weiterarbeit auf dem Quecksilbergebiet an. Als Ausgangspunkt

benutzte man die mercurierten Phenole und ihre Homologen. Es gelang auch, durch Absättigung der zweiten Valenz des Quecksilbers in den mercurierten Verbindungen durch Cyan, Jod und den Ferro- bzw. Ferrieyanwasserstoffrest oder durch Beimischung von gelbem bzw. rotem Blutlaugensalz ganz besonders beim mercurierten Kresol eine Wirkungssteigerung zu erreichen.

Inzwischen hatte die Beizmittelfrage eine neue Richtung bekommen. Während man bisher ausschließlieh den Parasiten am Korn durch Eintauchen des Saatgutes in eine wässerige Beizlösung oder durch Benetzen des Getreides mit Beizflüssigkeit vernichtet hatte, ging man dazu über, das Saatgetreide mit staubfeinen Mitteln, den Trockenbeizen, einzupudern, die erst im Boden durch die Bodenlösungen mobilisiert werden und dann ihre Beizwirkung entfalten. Den Gedanken, das Saatgut auf trockenem Wege zu entseuchen, hat schon im Jahre 1902 *Tubey* gehabt. In die Praxis wurde er allerdings erst nach dem Kriege durch die praktisch eingestellten Amerikaner umgesetzt, die das früher versuchte, aber schlecht haftende Kupfersulfat durch das gut einstäubende basische Kupfercarbonat ersetzt haben. Bereits im Jahre 1923 wurden nach diesem Verfahren 3 Millionen Doppelzentner Saatgut in Amerika behandelt. Die inzwischen in Deutschland mit dem Kupfercarbonat durchgeführten Versuche zeigten aber, daß dieses Mittel in der Wirkung nicht zuverlässig ist. Ausgehend von den Erfahrungen auf dem Naßheizgebiet wurde im Jahre 1924 von der I. G. Leverkusen die erste quecksilberhaltige Trockenbeize auf der Basis von mercuriertem Nitrophenol unter dem Namen „Uspulun-Trockenbeize“ in den Handel gebracht, die als erste Trockenbeize die amtliche Empfehlung gegen *Fusarium* erreichen konnte.

Inzwischen haben *Binz* und *Bausch* versucht, den Begriff des chemotherapeutischen Index *C/t*, wie er bereits von *Ehrlich* für die Prüfung von Arzneistoffen gegen Infektionskrankheiten eingeführt worden war, auch auf das Gebiet der Pflanzenpathologie zu übertragen. Für ihre Versuche benutzten die beiden

Forscher Sporen von Gerstenhartbrand (*Ustilago hordei*) und Gerstenkörner. Als Dosis curativa (c) wurde die Konzentration einer Beizlösung angesprochen, die in einer bestimmten Tauchzeit die Sporen gerade abtötet. Als Dosis toxica (t) wurde die Konzentration ermittelt, die in der gleichen Tauchzeit die erste Keimschädigung des Getreides erkennen läßt. Nach dieser Normung ist das geprüfte Mittel am wertvollsten, das den kleinsten chemotherapeutischen Index aufweist. *Gassner* hatte den chemotherapeutischen Index für Beizstoffe im Laboratorium durch Versuche mit Weizensteinbrandsporen (*Tilletia tritici*) und Weizenkörnern auf eine breitere Basis gestellt und so die Prüfungsmethodik noch wesentlich erweitert. Wenn auch der im Laboratorium gefundene Wert mehr theoretische Bedeutung hat und noch durch praktische Feldversuche gestützt werden muß, so gestattet er wenigstens, die einzelnen in dieser Richtung geprüften Verbindungen untereinander zu vergleichen und so die unwirksamen auszuschneiden. *Gassner* hat seine diesbezüglichen Versuche nur mit Quecksilberverbindungen, insbesondere mit organischen Hg-Verbindungen, durchgeführt.

Während man bei den seitherigen Forschungen nach wirksamen Quecksilberverbindungen fast nur mercuriorto sauro oder basische Verbindungen geprüft hatte, bezog *Leverkusen* einen neuen Verbindungstyp, und zwar die mercurierten Kohlenwasserstoffe in den Bereich seiner Untersuchungen ein. Fast gleichzeitig hatte schon *Klages* den Einfluß der Quecksilberalkyle auf Gerstenhartbrandsporen und Weizenkörner geprüft und dabei festgestellt, daß diese Körper gegen Spore und Korn sehr giftig sind. Fungizid verhalten sich nach seinen Feststellungen die einzelnen Verbindungen nicht gleichsinnig. Auch ist die Verträglichkeit gegenüber dem Korn verschieden. Eine praktische Auswertung haben diese Versuche nicht gefunden, zumal *Klages* den chemotherapeutischen Index nicht zahlenmäßig ermittelt hat, der schließlich für die Brauchbarkeit als Beizmittel entscheidend ist. Die in *Leverkusen* mit den mercurierten

Kohlenwasserstoffen durchgeführten Versuche führten rasch zu der Erkenntnis, daß es sich bei diesen für das Beizmittelgebiet neuartigen Verbindungen um besonders hochwirksame Stoffe handelt, die den mercurierten sauren und basischen Verbindungen wesentlich in der Wirkung überlegen sind. Der fungizide Wert der mercurierten Kohlenwasserstoffe ist nicht ohne weiteres dem Quecksilbergehalt proportional, sondern wird ganz eindeutig durch die chemische Konstitution und die physikalischen Eigenschaften beeinflusst. Ähnliche Gesetzmäßigkeiten haben schon *Paul* und *Krönig* bei ihren Desinfektionsversuchen und später *Schöller* und *Schrauth* in ähnlichen Versuchen mit anderen Quecksilberverbindungen festgestellt. Diese Gruppe enthält gegen alle Erreger der Getreidekrankheiten, die durch das Saatgut übertragen werden, besonders wirksame Verbindungen. Die Universal-trockenbeize *Corosan* ist auf dieser Grundlage aufgebaut und stellt die erste Trockenbeize mit universellem Charakter dar. Während sich nun die mercurierten Kohlenwasserstoffe in erster Linie auf dem Trockenbeizgebiet durchsetzen konnten, gelang es Elberfeld und Leverkusen bald, in den Äthern des mercurierten Äthanol-Quecksilberverbindungen aufzufinden, die nicht nur in Richtung Trockenbeize, sondern auch besonders als Naßheizmittel den mercurierten Kohlenwasserstoffen überlegen waren. Zwar hatte man schon das mercurierte Äthanol und seine Ester mit dem gleichen Ziel versucht. Eine praktische Bedeutung haben jedoch diese Körper nicht gefunden, weil sie den Äthern fungizid stark unterlegen sind. Dieser neue Quecksilbertypus, der sich in seiner Herstellung eng an das bereits schon genannte Arzneimittel *Salyrgan* anlehnt — in beiden Fällen handelt es sich um die Aufhebung von Doppelbindung durch Quecksilbersalze in Gegenwart von Alkohol —, stellt wohl den größten Fortschritt der jüngsten Zeit dar. Die Arbeiten auf diesem Gebiet fanden ihren Niederschlag in der Herausarbeitung der *Ceresan*-Naßbeize (U. 564), die den seither bekannten Naßbeizen in der Wirkung überlegen ist. Die neue

Naßbeize wirkt nicht nur im Tauch- und Benetzungsverfahren, sondern auch im Kurznaßbeizverfahren, das eine Nutzanwendung jüngsten Datums ist. Auch im Trockenbeizverfahren sind diese Körper besonders wirksam.

Aus der kurzen Zusammenstellung geht hervor, daß zwischen den Pflanzenschutzmitteln, den Farbstoffen und Arzneistoffen chemische Zusammenhänge bestehen. Den Ausgangspunkt aller drei in ihrer Anwendung ganz verschiedenen Mittel bildet der Steinkohlenteer. Erst durch Isolierung verschiedener Anteile, besonders aber der Phenole, und deren Überführung in die Carbonsäuren, wie z. B. Salicylsäure, oder Mercurierung gelang es, Produkte zu schaffen, die grundlegend waren für die Entwicklung der Farbstoffe, der Arzneistoffe und der Schädlingsbekämpfungsmittel. Während nun die Phenole und die Salicylsäure als Zwischenprodukte für wichtige Farb- und Arzneistoffe heute noch große Bedeutung haben, hat das Mercurierungsprodukt von Phenol für die Schädlingsbekämpfung nur noch geschichtlichen Wert. Immerhin muß anerkannt werden, daß gerade die Entwicklung der Schädlingsbekämpfungsmittel, insbesondere der Beizmittel, grundlegend beeinflußt worden ist von den Arbeiten auf dem Arzneimittelgebiet. Ein klassisches Beispiel dafür stellt das Uspulun dar. Weiter ist wichtig, daß auch für die Arbeiten auf dem Schädlings- und Arzneimittelgebiet starke innere Beziehungen bestehen. Es sei hier nur an die Einführung des chemotherapeutischen Index aus der Chemotherapie der Infektionskrankheiten in das Gebiet der Pflanzenpathologie erinnert. Diese innere Verbundenheit zwischen Schädlingsbekämpfungsmitteln und Arzneistoffen geht schon organisch daraus hervor, daß nach der jüngsten Entwicklung die Stellen, die sich mit pharmazeutischen Problemen befassen, auch immer mehr das Gebiet der Schädlingsbekämpfung bearbeiten.

Beiträge zur statistischen Auswertung biologischer Reihenversuche

DR. W. LODI

Aus dem Physikalischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG,
Werk Elberfeld

Der Mediziner, der pharmazeutische Präparate in biologischen Reihenversuchen zu prüfen hat, eignet sich schnell ein Schätzungsvermögen an sowohl für die Genauigkeit als auch für die Zuverlässigkeit seiner Resultate. Bei der Ausarbeitung seiner Prüfverfahren lernt er einerseits, wie er die Dosen der zu prüfenden Stoffe abstufen muß, um deutliche, aber nicht zu starke Unterschiede der biologischen Wirkung zu erzielen, und er kann daraus die Genauigkeit seiner Versuchsergebnisse ermessen. Andererseits kann er die Unzuverlässigkeit eines Versuches z. B. an einer trotz richtiger Abstufung der Dosen eintretenden Überschneidung erkennen, d. h. an dem Falle, daß eine kleinere Dosis eine stärkere Wirkung als eine größere Dosis hervorbringt.

Trotzdem sind in vielen Laboratorien zum Auswerten biologischer Reihenversuche auch statistische Methoden herangezogen worden in dem Wunsche, genauere und sicherere Resultate zu gewinnen. Dieser Wunsch muß sich besonders dann aufdrängen, wenn zahlreiche Präparate auf dieselbe Wirkung hin geprüft werden müssen und aus den mit großem Aufwand an Versuchsmaterial und Arbeitskräften gewonnenen Unterlagen die darin enthaltenen Aussagen möglichst vollständig ausgeschöpft werden sollen.

Ein solcher Fall lag uns vor bei der Durchforschung der Stoffe und Stoffgemische, die bei der Herstellung des Vitamins D durch photochemische Umwandlung des Ergosterins mittels ultravioletter Bestrahlung entstehen.

Zur Bestimmung ihrer antirachitischen Wirksamkeit wurden die aus diesen Stoffen bereiteten Präparate in einem

„Rachitis-Schutzversuch“ nach der Methode geprüft, die von *Holtz, Laquer, Kreitmair und Moll* in der Biochemischen Zeitschrift 1931, Bd. 237, S. 247—275, ausführlich beschrieben worden ist. Hier sei deshalb nur eine kurze Beschreibung des zum Verständnis des Folgenden Wichtigsten eingefügt.

Eine Anzahl, meist 10, Ratten werden 14 Tage lang mit einer Vitamin-D-armen Kost und einer Dosis des zu untersuchenden Präparates gefüttert. Nach Ablauf dieser Zeit wird mittels eines Röntgenbildes festgestellt, wieviele der so behandelten Tiere an einer empfindlichen Stelle des Kniegelenkes beginnende Rachitis zeigen. Da in der Versuchszeit ohne Verabfolgung eines Vitamin-D-haltigen Stoffes sämtliche Ratten infolge des Vitamin-D-armen Futters rachitisch geworden wären, so kann die Anzahl der nicht erkrankten, der „geschützten“ Tiere für die Bestimmung der Wirksamkeit des Präparates benutzt werden. In jedem Versuche werden gleichzeitig drei oder vier solcher Teilversuche mit verschiedenen, zweckmäßig abgestuften Dosen durchgeführt. Von sehr kleinen Dosen eines Präparates werden keine Ratten geschützt; von sehr großen Dosen eines wirksamen Präparates werden alle Ratten geschützt; dazwischen gibt es ein Intervall, innerhalb dessen der geschützte Anteil der untersuchten Tiere desto größer ist, je größer die verabreichte Dosis ist. Als „antirachitische Ratteneinheit“ ist diejenige Dosis definiert, mittels der man auf die beschriebene Weise 80 % der untersuchten Tiere schützen kann.

Selbstverständlich wird bei diesen Versuchen jede erreichbare Gleichmäßigkeit der Versuchsbedingungen innegehalten, z. B. der Abstammung und des Alters der Ratten, der Herkunft des Futters, das vor und während der Versuche verabfolgt wird, des Schutzes vor Sonnenlicht, der Menge und der Art des Öles, in dem die zu prüfenden Substanzen gelöst werden, der Technik des Applizierens dieser Lösungen an die Tiere usw.

Solche Versuche wurden in unserem physiologischen Laboratorium jahrelang an Tausenden von Ratten durchgeführt,

teils zur Standardisierung von Handelspräparaten (Vigantol, Vigantol-Lebertran), teils für die schon erwähnte wissenschaftliche Bearbeitung der Vitamin-D-Herstellung. Um die restlose Ausnutzung des hierfür notwendigen Apparates sicherzustellen, war zu untersuchen, in welcher Weise statistische Hilfsmittel herangezogen werden konnten.

Als dem Versuch einer statistischen Behandlung zugänglich boten sich folgende Fragestellungen dar:

1. Wie genau ist die beschriebene Wirksamkeitsbestimmung?
2. Läßt sich die Genauigkeit durch Änderung der Versuchsführung steigern?
3. Können die ständig laufenden Schutzversuche mit einem Kontroll-Vigantol benutzt werden zum Berücksichtigen etwaiger zeitlicher Schwankungen der Versuchsbedingungen?

Über die Bearbeitung dieser drei Fragen soll im folgenden berichtet werden.

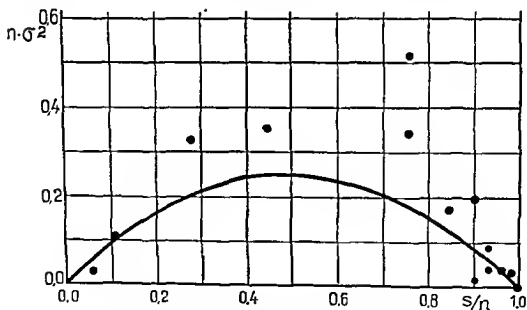
1. Die Genauigkeit der Wirksamkeitsbestimmung.

Die Frage nach einer zahlenmäßigen Angabe der Genauigkeit einer ermittelten Ratteneinheit drängte sich besonders immer dann auf, wenn von zwei ungefähr gleich wirksamen Substanzen die wirksamere bestimmt werden sollte. Man war geneigt, eine häufig benutzte Fehlerformel der Wahrscheinlichkeitsrechnung anzuwenden und zu sagen: Die in einem Teilversuch gefundene Anzahl s der geschützten unter den n mit gleicher Dosis eines Präparates untersuchten Ratten hat den mittleren Fehler $\pm \sqrt{s(1-s/n)}$; liegt die Anzahl s' der mit der gleichen Dosis eines anderen Stoffes geschützten Tiere zwischen den Grenzen $s - \sqrt{s(1-s/n)}$ und $s + \sqrt{s(1-s/n)}$, so ist ein Unterschied zwischen beiden Präparaten vielleicht vorhanden, aber zu klein, um aus diesen beiden Versuchen erkannt werden zu können; liegt jedoch s' außerhalb der genannten Grenzen, so ist mit einer gewissen Sicherheit dadurch ein Unterschied der Wirksamkeiten beider Substanzen als nachgewiesen anzusehen.

So plausibel dieser Gedankengang erseinen mag, so war doch seine allgemeine Anwendung zu beanstanden. Zunächst sollten auf so wenig zahlreiche Tiere, wie sie in diesen Versuchen fast immer nur vorkamen, statistische Formeln überhaupt nicht angewendet werden. Außerdem ist die genannte Fehlerformel nur für solche Fälle abgeleitet, in denen die beobachteten Individuen, also in unserem Falle die untersuchten Ratten, eine zufällige Auswahl aus allen gleichartigen Individuen sind; dieser Fall braucht aber in unseren Schutzversuchen nicht immer vorzuliegen, z. B. dann nicht, wenn gelegentlich ganze Würfe von Ratten eine abnorm hohe oder geringe Empfindlichkeit gegen Vitamin D oder Vitamin-D-Mangel besitzen.

Der Nachweis für die Berechtigung des zweiten Einwandes ergab sich, als die in 158 Versuchen mit 14 verschiedenen Dosen kristallisierten Vitamins D an zusammen 1540 Ratten beobachtet

Abb. 1



n = Anzahl der untersuchten Tiere.

S = Anzahl der geschützten Tiere.

σ = mittlerer Fehler von S/n .

• = aus Versuchen statistisch berechnet.

— = wahrscheinlichkeitstheoretische Werte für ganz gleichmäßiges Tiermaterial.

teils zur Standardisierung von Handelspräparaten (Vigantol, Vigantol-Liebertran), teils für die schon erwähnte wissenschaftliche Bearbeitung der Vitamin-D-Herstellung. Um die restlose Ausnutzung des hierfür notwendigen Apparates sicherzustellen, war zu untersuchen, in welcher Weise statistische Hilfsmittel herangezogen werden konnten.

Als dem Versuch einer statistischen Behandlung zugänglich boten sich folgende Fragestellungen dar:

1. Wie genau ist die beschriebene Wirksamkeitsbestimmung?
2. Läßt sich die Genauigkeit durch Änderung der Versuchsführung steigern?
3. Können die ständig laufenden Schutzversuche mit einem Kontroll-Vigantol benutzt werden zum Berücksichtigen etwaiger zeitlicher Schwankungen der Versuchsbedingungen?

Über die Bearbeitung dieser drei Fragen soll im folgenden berichtet werden.

1. Die Genauigkeit der Wirksamkeitsbestimmung.

Die Frage nach einer zahlenmäßigen Angabe der Genauigkeit einer ermittelten Ratteneinheit drängte sich besonders immer dann auf, wenn von zwei ungefähr gleich wirksamen Substanzen die wirksamere bestimmt werden sollte. Man war geneigt, eine häufig benutzte Fehlerformel der Wahrscheinlichkeitsrechnung anzuwenden und zu sagen: Die in einem Teilversuch gefundene Anzahl s der geschützten unter den n mit gleicher Dosis eines Präparates untersuchten Ratten hat den mittleren Fehler $\pm \sqrt{s(1-s/n)}$; liegt die Anzahl s' der mit der gleichen Dosis eines anderen Stoffes geschützten Tiere zwischen den Grenzen $s - \sqrt{s(1-s/n)}$ und $s + \sqrt{s(1-s/n)}$, so ist ein Unterschied zwischen beiden Präparaten vielleicht vorhanden, aber zu klein, um aus diesen beiden Versuchen erkannt werden zu können; liegt jedoch s' außerhalb der genannten Grenzen, so ist mit einer gewissen Sicherheit dadurch ein Unterschied der Wirksamkeiten beider Substanzen als nachgewiesen anzusehen.

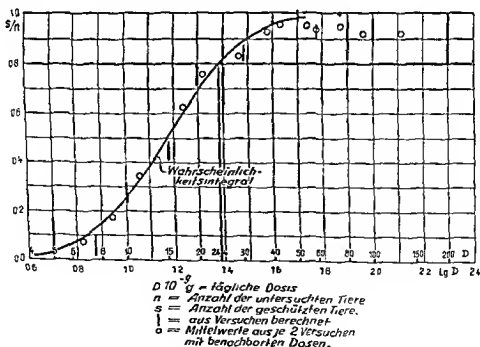
„Standard-Vigantol“ dieselbe Anzahl Ratten geschützt haben würde. In demselben Größenverhältnis D/D_{stand} wie diese beiden Dosen müssen auch die Ratteneinheiten E und E_{stand} des zu prüfenden Präparates und des Standard-Vigantols zueinander stehen, da ja gleiche Schutzwirkungen von gleichen Vitamindosen bewirkt werden. Die gesuchte Ratteneinheit kann also berechnet werden zu

$$E = E_{\text{stand}} \cdot D/D_{\text{stand}}.$$

Diese Überlegung entspricht dem Gedankengang, wie er in anderen Methoden zur Prüfung antirachitischer Präparate, z. B. von *Bills, Honeywell, Wirick* und *Nussmeyer* [Journ. of biol. Chem. 90, (1931), 2, 619—636] und von *Bourdillon, Bruce, Fischmann* und *Webster* [Med. res.ounc., spec. rep. ser. Nr. 158 (1931), referiert Ber. üb. d. ges. Physiol. 71 (1933) 5/6, 384—386] angewendet worden ist.

In einigen Fällen haben auch wir Versuche auf die beschriebene Weise durchgeführt. Die zuletzt benutzte Grundlage für die Auswertung solcher Versuche wurde aus den schon unter 1 erwähnten Versuchen mit dem kristallisierten Vitamin D

Abb. 2



teten Schutzwirkungen miteinander verglichen und daraus die mittleren Fehler σ der Quotienten s/n für jede der 14 Dosen statistisch berechnet wurden. Zur Gegenüberstellung sind in Abb. 1 dargestellt einerseits durch Punkte die so berechneten statistischen Werte der Größe $n \cdot \sigma^2$, andererseits durch eine Kurve die wahrscheinlichkeitstheoretischen Werte derselben Größe, wie sie sich aus der oben angegebenen Formel berechnen. Man sieht, daß die aus den Versuchen berechneten Fehler tatsächlich deutlich größer sind, als sie von der nur auf völlig gleichmäßiges Tiermaterial anwendbaren Formel angegeben werden.

Aus diesen Gründen wurden unsere Rachitisschutzversuche im allgemeinen nicht statistisch ausgewertet, sondern es wurden Unterschiede ungefähr gleich wirksamer Präparate dann als sicher nachgewiesen angesehen, wenn alle Dosen des einen Stoffes einen größeren Anteil der damit untersuchten Tiere geschützt hatten als die gleichen Dosen des anderen Stoffes.

2. Die Abstufung der Dosen.

Es besteht die Möglichkeit, einen kleinen Gewinn an Genauigkeit der Ergebnisse durch eine Abänderung der Schutzversuche zu erzielen, indem man nicht mehrere Dosen der zu untersuchenden Substanz an je 10 Ratten, sondern nur eine Dosis an 30 bis 40 Ratten verabfolgt und diese Dosis auf Grund eines Vorversuches so wählt, daß sie in den Bereich höchster Versuchsgenauigkeit fällt. Denn es muß ja, wie man sich leicht überlegen kann, in der Skala der Dosengröße einen Bereich geben, in dem die für eine deutliche Steigerung der Schutzwirkung erforderliche Vergrößerung der Vitamindosis am kleinsten ist, und dies ist offenbar der Bereich größter Versuchsgenauigkeit, weil in ihm der Vitamingehalt von der Schutzwirkung am empfindlichsten angezeigt wird. Die Auswertung eines so abgeänderten Versuchs müßte so geschehen, daß man die verabreichte Dosis D vergleicht mit derjenigen Dosis D_{stand} , in der erfahrungsmäßig ein besonders sorgfältig in verschiedenen Dosen untersuchtes

wie bekanntermaßen die Schutzwirkung eines Stoffes von dem Lösungsmittel abhängt, in dem es an die Versuchstiere verabfolgt wird, kann sie auch von Beimischungen abhängen, die außer dem Vitamin im Präparat vorhanden sind. Damit entfällt aber die Grundlage für die Auswertung der abgeänderten Versuche; denn es ist doch möglich, daß diejenigen Ratten besonders stark auf eine solche Beimischung reagieren, die von besonders kleinen oder besonders großen Vitamindosen geschützt werden, und in diesem Falle ist das Größenverhältnis derjenigen Dosen zweier Stoffe, die gleiche Schutzwirkung ausüben, nicht gleich dem Größenverhältnis der Ratteneinheiten beider Stoffe.

3. Die Gleichmäßigkeit der Versuchshedingungen.

Während bei der Behandlung der im vorstehenden besprochenen Probleme die statistischen Methoden keinen positiven Fortschritt brachten, gelang es, über die Frage nach der Gleichmäßigkeit der Versuchshedingungen statistische Feststellungen zu treffen. Als Unterlagen hierfür dienten die Versuche mit einem Kontroll-Vigantol, das jahrelang gleichzeitig mit jedem zu prüfenden Präparat den Schutzversuchen unterworfen wurde, und die schon unter 1 erwähnten Versuche mit dem kristallisierten Vitamin D. Ihre Ratteneinheiten ergaben sich durchschnittlich zu $0,18 \gamma = 180 \cdot 10^{-9} \text{ g}$ und $0,024 \gamma = 24 \cdot 10^{-9} \text{ g}$. Es kam jedoch gelegentlich vor, daß ein Versuch eine stark abweichende Wirksamkeit lieferte, und es erhob sich die Frage, ob die gleichzeitig durchgeführten Untersuchungen anderer Substanzen ebenfalls als gestört anzusehen waren. Wegen der wichtigen Standardisierungsversuche zur Einstellung der Handelspräparate auf eine bestimmte Wirksamkeit war außerdem die Frage zu beantworten, ob die Schutzversuche regelmäßigen Schwankungen, z. B. in Abhängigkeit von den Jahreszeiten, unterliegen und wie gegebenenfalls solche Schwankungen bei der Auswertung der Versuche berücksichtigt werden können.

gewonnen und ist in Abb. 2 dargestellt. Darin sind die Dosen waagerecht in logarithmischem Maßstabe aufgetragen. Die senkrechten Striche erstrecken sich zwischen den an der Ordinatenskala ablesbaren Grenzen der mittleren Fehler von s/n . Da sich diese Striche nicht durch eine glatte Kurve verbinden lassen, wurden zur „Glättung“ aus je zwei Versuchen mit benachbarten Werten der Dosis Mittelwerte des Logarithmus und der Werte von s/n berechnet und im Diagramm durch Kreise dargestellt. Es zeigt sich, daß, wenn man die Versuche mit den fünf größten Dosen unberücksichtigt läßt, durch die Kreise sehr gut eine glatte Kurve gelegt werden kann, die eine als „Gaußsches Wahrscheinlichkeitsintegral“ bekannte mathematische Funktion darstellt. Dieser Befund ist deshalb bemerkenswert, weil schon für zahlreiche Versuche mit anderen therapeutischen Präparaten ebenfalls die Abhängigkeit der Zahl der positiv beeinflussten Tiere vom Logarithmus der Dosis durch solche Gaußsche Wahrscheinlichkeitsintegrale dargestellt worden ist [siehe z. B. *Gaddum, Med. res. coun. spec. rep. ser. No. 183 (1933)*].

Von der regelmäßigen Anwendung der eben beschriebenen Versuchsführung haben wir jedoch abgesehen, weil dagegen Einwände praktischer und theoretischer Art zu erheben sind.

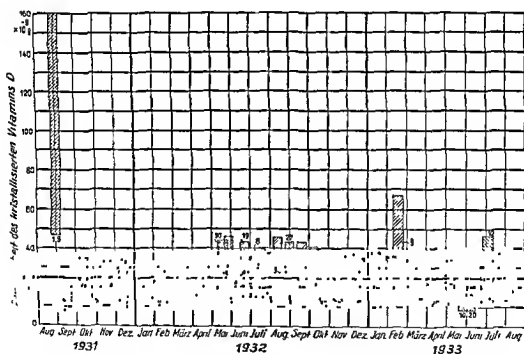
Die praktischen Einwände gehen dahin, daß die Dauer der Untersuchung zusammen mit dem Vorversuch sich auf 4 Wochen verdoppelt, daß im Falle einer Störung der Versuchsbedingungen das Versuchsergebnis völlig wertlos ist und daß schließlich in einem solchen Falle dem Ergebnis seine Fehlerhaftigkeit nicht angesehen werden kann. Bei der gewöhnlichen, eingangs geschilderten Versuchsführung dagegen kontrollieren sich die Teilversuche mit den verschiedenen Dosen gegenseitig, und auch im Falle des Mißlingens eines Teilversuchs liefern die übrigen meistens noch ein brauchbares Ergebnis.

Der theoretische Einwand gegen die abgeänderte Versuchsführung besteht darin, daß die Wirksamkeit einer Substanz nicht allein von seinem Vitamingehalt abzuhängen braucht. Ebenso

in ihm alle oder nur eines oder keines der untersuchten Tiere geschützt worden waren.

Beide Diagramme zeigen, daß die durchschnittlichen Ratteneinheiten innerhalb oder wenig außerhalb der Fehlergrenzen der meisten Versuche liegen. Aus Abb. 3 ist außer den unregelmäßigen Schwankungen eine zeitliche Veränderlichkeit der Ratteneinheit nicht erkennbar; auch die Anwendung besonderer statistischer Methoden (Kriterium von *Abbe*, Korrelationsverhältnis) hat keinen Hinweis auf eine Regelmäßigkeit in den Schwankungen der Ratteneinheit des Kontroll-Vigantols gebracht. Abb. 4 zeigt zwar, daß zu manchen Zeiten mehrere

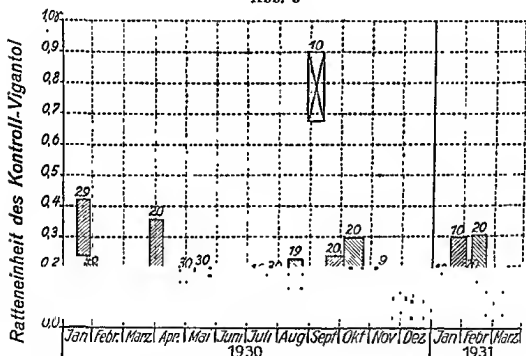
Abb. 4



aufeinander folgende Versuche Ratteneinheiten geliefert haben, die in demselben Sinne von der durchschnittlichen Ratteneinheit des Vitamins D abweichen; es ist aber weder ein dauerndes Zu- oder Abnehmen noch ein in bestimmten Perioden, etwa mit den Jahreszeiten wechselndes Zu- und Abnehmen der Ratteneinheit festzustellen. Damit ist bewiesen, daß zwar gelegentlich infolge

Um diese Fragen zu beantworten, wurden die genannten, unter, soweit beeinflußbar, ganz gleichmäßigen Bedingungen durchgeführten Kontrollversuche statistisch ausgewertet. Die Einzelheiten des Rechenverfahrens können hier nicht geschildert werden. Es sei nur gesagt, daß aus jedem Teilversuch nach der unter 2 geschilderten Methode ein Wert der Ratteneinheit ermittelt und aus jeder Gruppe gleichzeitig angesetzter Tierversuche ein Mittelwert dieser Ratteneinheiten und sein mittlerer Fehler berechnet wurden. Die Ergebnisse sind in Abb. 3 und 4

Abb. 3



wiedergegeben. Hierin ist jeder Tierversuch durch ein Rechteck dargestellt, dessen Breite im unten angeschriebenen Zeitmaßstab die Versuchsdauer angibt und dessen Höhe in der links angeschriebenen Skala der Ratteneinheiten sich zwischen den abgeschätzten Fehlergrenzen erstreckt. An jedem Rechteck ist die Anzahl der zur Auswertung des Versuchs herangezogenen Tiere angegeben; diese Zahl ist dann kleiner als die Anzahl der in den Versuch eingesetzten Tiere, wenn ein Teilversuch zur Auswertung des Versuchs nicht herangezogen werden konnte, weil

daraus ist die Regel abzuleiten: Wenn ein Kontrollversuch eine erheblich falsche Batteneinheit geliefert hat, so sind auch die gleichzeitigen Wirksamkeitsbestimmungen an anderen Präparaten als unzuverlässig anzusehen.

nicht mehr aufzuklärender Störungen einige vom Durchschnitt merklich abweichende Versuchsergebnisse auftreten, daß aber im übrigen die Versuche keinen ständig sich vergrößernden oder in regelmäßigen Zeitabständen sich wiederholenden Veränderungen unterliegen. Diese Feststellung ist, wie schon angedeutet, besonders wichtig als Grundlage für die Standardisierung des Handels-Vigantol.

Es ist erwogen worden, ob man beim Auswerten der gewöhnlichen Schutzversuche mit zu prüfenden Präparaten den Ausfall der gleichzeitig durchgeführten Kontrollversuche mit dem Kontroll-Vigantol oder mit dem kristallisierten Vitamin D berücksichtigen müsse, etwa derart, daß man die ermittelte Ratteneinheit vergrößert oder verkleinert in demselben Verhältnis, in dem aus den Kontrollversuchen die Ratteneinheit sich größer oder kleiner als ihr bekannter Durchschnittswert ergeben hat. Eine solche Umrechnung muß aber als im allgemeinen nicht gerechtfertigt bezeichnet werden. Denn aus Abb. 3 und 4 ist ja zu ersehen, daß die meisten Abweichungen der Ratteneinheiten von ihrem Durchschnittswert von der Größenordnung der mittleren Fehler sind. Eine Berücksichtigung solcher einer Abweichung darf deshalb höchstens nachträglich geschehen, wenn sich gezeigt hat, daß in jener Zeit alle Kontrollversuche eine Tendenz zu über- oder unternormalen Ratteneinheiten gehabt haben.

Lediglich die seltenen starken Abweichungen im Ausfall der Kontrollversuche weisen auf eine wesentliche Störung der Versuche hin, die sich auf alle gleichzeitig durchgeführten Versuche erstrecken könnte. In der Tat konnte gelegentlich festgestellt werden, daß gleichzeitig mit einem viel zu kleinen Ausfall der am Kontroll-Vigantol bestimmten Ratteneinheit auch die Ratteneinheit eines anderen Präparates sich erheblich kleiner ergab, als sie einige Wochen vorher gefunden worden war. Aus diesem Beispiel ersieht man, daß die (ihrer Natur nach unbekannte) Ursache für eine Störung des Kontrollversuchs auch die gleichzeitigen Versuche mit anderen Stoffen stören kann, und

Kinematographie, sondern steht am Anfang in der Geschichte der Kinematographie. Es ist hier nun nicht der Platz, einen möglichst vollständigen geschichtlichen Rückblick über den medizinischen Film zu gehen, aber es sei doch an einige grundlegende Erfolge erinnert.

Im Jahre 1872 erhielt der damalige Leiter des photographischen Landesaufnahmedienstes in Kalifornien, *E. Muybridge* (ein geborener Engländer), von dem dortigen Gouverneur, der Besitzer eines Gestütes war, den Auftrag, den Beweis zu erbringen, ob ein trahendes Pferd in irgendeinem Augenblick alle vier Füße gleichzeitig vom Erdboden entferne. *Muybridge* löste die ihm gestellte Aufgabe im hehrenden Sinne durch Herstellung geeigneter Reihenphotographien mit den Phasenhildern eines trahenden Pferdes. Durch diesen Erfolg angespornt, hatte sich *Muybridge* unermüdlich weiterhin mit der Analyse tierischer und menschlicher Bewegungen an Hand selbst aufgenommener Serien von photographischen Momentbildern beschäftigt. Im Jahre 1879 schuf *Muybridge* auch eine Projektionsapparatur zu seinem Zoopraxiskop (Lehensrad mit Glasphotographien und gegenläufiger Schlitzscheibe). Obwohl die Aufnahme- sowie die Wiedergangvorrichtung noch nichts mit der späteren Erfindung der Gebrüder *Lumière* zu tun hatte, wird doch *Muybridge* mit Recht als Begründer der ersten projizierten lebenden Photographien angesehen. Die bald darauf sich entwickelnde Kinematographie war auch in der Folgezeit reich an Versuchen zur Herstellung wissenschaftlicher Filme. Der bekannte französische Physiologe *Jules Marey* in Boulogne sur Seine bei Paris benutzte 1894 erstmalig den kinematographischen Aufnahmeapparat in Verbindung mit dem Mikroskop, um die Bewegung niederer Lebewesen darzustellen. Auf die kinematographischen Arbeiten von *Marey* und seines Nachfolgers *François Franc* aufbauend, hat dann vor allem *Jean Comandon* weiterhin erfolgreiche wissenschaftliche Studien über die Anwendung des Kinematographen, besonders zur Darstellung lebender Mikroorganismen, gemacht und auch

Die Kinematographie im Dienste der medizinisch-biologischen Forschung

DR. OSKAR WAONER

Aus dem Parasitologischen Institut der I. O. Farbenindustrie AG.,
Werk Hoechst

Der wissenschaftliche Film, der im letzten Jahrzehnt eine immer größere Bedeutung gewonnen hat, ist infolge seiner hohen Anschaulichkeit allen anderen Lehrmitteln weit überlegen und von unschätzbarem Wert besonders für biologische Forschungen. Als visuelles Ausdrucksmittel ist seine Wirkung nicht nur lehnender und überzeugender als das gesprochene Wort allein, sondern dabei auch von internationaler Verständlichkeit.

Die Bedeutung der Kinematographie für Wissenschaft und Forschung besonders auf dem Gebiete der medizinischen und veterinär-medizinischen Biologie steht wohl außer Frage, wenn man bedenkt, daß alle Lebensvorgänge durch visuelle Eindrücke von uns wahrgenommen werden. Das Mikroskop mit allen seinen Nebenapparaten ist als Untersuchungs- und Forschungsmittel aus den wissenschaftlichen Laboratorien heute gar nicht mehr wegzudenken. Das Mikroskop in Verbindung mit dem Kinematographen aber ermöglicht dem beobachtenden Forscher erst, das Gesehene Bild bewegter Mikroorganismen dokumentarisch festzubalten und jederzeit unabhängig von Ort und Material naturgetreu wieder zu demonstrieren. Das Laufbild unterstützt dabei nicht nur den Gesichtssinn, sondern Bewegungs- und Wachstumsvorgänge, die für gewöhnlich nicht wahrnehmbar sind, können sichtbar gemacht werden und der Wissenschaft ganz neue Erkenntnisse vermitteln. Natürlich kann auch der biologische Film, insbesondere als Unterrichtsmittel, nur gute Anschauung der Lebensvorgänge vermitteln und zur Dokumentation dienen; experimentelle Arbeiten können durch ihn niemals ersetzt oder verdrängt werden. — Der wissenschaftliche Forschungsfilm ist nun aber keineswegs eine neuartige Anwendungsform der

Kinematographie, sondern steht am Anfang in der Geschichte der Kinematographie. Es ist hier nun nicht der Platz, einen möglichst vollständigen geschichtlichen Rückblick über den medizinischen Film zu geben, aber es sei doch an einige grundlegende Erfolge erinnert.

Im Jahre 1872 erhielt der damalige Leiter des photographischen Landesaufnahmedienstes in Kalifornien, *E. Muybridge* (ein geborener Engländer), von dem dortigen Gouverneur, der Besitzer eines Gestütes war, den Auftrag, den Beweis zu erbringen, ob ein trabendes Pferd in irgendeinem Augenblick alle vier Füße gleichzeitig vom Erdboden entferne. *Muybridge* löste die ihm gestellte Aufgabe im bejahenden Sinne durch Herstellung geeigneter Reihenphotographien mit den Phasenhildern eines trahenden Pferdes. Durch diesen Erfolg angespornt, hatte sich *Muybridge* unermüdlich weiterhin mit der Analyse tierischer und menschlicher Bewegungen an Hand selbst aufgenommener Serien von photographischen Momentbildern beschäftigt. Im Jahre 1879 schuf *Muybridge* auch eine Projektionsapparatur zu seinem Zoopraxiskop (Lehensrad mit Glasphotographien und gegenläufiger Schlitzscheibe). Obwohl die Aufnahme- sowie die Wiedergabevorrichtung noch nichts mit der späteren Erfindung der Gebrüder *Lumière* zu tun hatte, wird doch *Muybridge* mit Recht als Begründer der ersten projizierten lebenden Photographien angesehen. Die bald darauf sich entwickelnde Kinematographie war auch in der Folgezeit reich an Versuchen zur Herstellung wissenschaftlicher Filme. Der bekannte französische Physiologe *Jules Marey* in Boulogne sur Seine bei Paris benutzte 1894 erstmalig den kinematographischen Aufnahmeapparat in Verbindung mit dem Mikroskop, um die Bewegung niederer Lebewesen darzustellen. Auf die kinematographischen Arbeiten von *Marey* und seines Nachfolgers *François Franck* aufbauend, hat dann vor allem *Jean Comandon* weiterhin erfolgreiche wissenschaftliche Studien über die Anwendung des Kinematographen, besonders zur Darstellung lebender Mikroorganismen, gemacht und auch

die Ultramikroskopie für kinematographische Aufnahmen mit herangezogen. *Julius Ries* hat später (1909) in dem maritimen Laboratoire Arago in Banyuls sur Mer seine Kinematographie der Befruchtung und Zellteilung am Seeigel geschaffen. Entsprechend dem urkundlichen Charakter der Photographie wurden immer neue Versuche, vor allem auch von der Spielfilmindustrie, unternommen, den Film in den Dienst der Technik, Naturwissenschaft und Medizin zu stellen. Infolge der leider allzu geringen Rentabilität dieser wissenschaftlichen Filmmaking jedoch die Entwicklung der Kinematographie ganz in die Bahnen der bühnenmäßigen Darstellung. Es folgte die Zeit der großen Theaterfilme, die der Sensations- und Schaulust der breiten Masse Rechnung trugen und meist auch ausverkaufte Kinohäuser brachten. Das Endergebnis war, daß eine Massenproduktion von „nervenaufregenden Skandalfilmen“ das Feld beherrschte und die spärliche und wenig planmäßige Produktion von rein wissenschaftlichen Filmen fast überall abgelehnt wurde. Erst seit den letzten zehn Jahren sind wieder tatkräftige Bestrebungen im Gange, um den Film als kinematographische Dokumentation für Unterricht und Forschung zu benutzen und ihm die gebührende Stelle, für die er auch von Anfang an prädestiniert war, zurückzuerobern.

Der Vorzug des Filmes, zeitlos sein zu können, macht ihn gerade für die Zwecke der Wissenschaft und Forschung ganz besonders geeignet, indem die Bewegungsvorgänge unabhängig von ihrem zeitlichen Ablauf durch vermehrte oder verlangsamte Aufnahmefrequenz in ihre Einzelphasen analysiert werden können. In dieser Hinsicht sind besonders wissenschaftlich reizvoll Aufnahmen aus der mikroskopischen Kleinlebewelt mit ihren ungemein phantastisch bizarren Formen und Bewegungen. Die Überlegenheit des Filmes gegenüber der subjektiven, an den normalen zeitlichen Ablauf gebundenen Beobachtung macht sich hierbei in erster Linie geltend.

Bahnbrecher auf dem Gebiete des medizinischen Filmwesens war in Deutschland vor allem *A. v. Rothe*, der die erste brauchbare

Apparatur für Nahaufnahmen von chirurgischen Kinohildern senkrecht von oben unter allen aseptischen Kautelen schuf. A. v. Rothe gründete auch an der Berliner Charité das kinematographische Universitäts-Institut, an dem Berichterstatter mehrere Jahre als wissenschaftlicher Mitarbeiter, besonders für Mikrokinematographie, tätig war. Die enorm hohen Unkosten und die nur sehr geringen wirtschaftlichen Ausnutzungsmöglichkeiten der medizinischen Kinematographie haben die auch bei der Spielfilmindustrie immer neuen hoffnungsvollen Ansätze zu keiner Blüte bringen lassen. Aber die nun einmal ins Rollen gekommene Bewegung ging trotz aller wirtschaftlichen Hemmnisse unentwegt, wenn auch mühsam weiter, weil der Film als wissenschaftliches Unterrichtsmittel gerade in der Naturwissenschaft und Medizin mehr und mehr an Bedeutung gewann. Es gibt heute wohl kein Spezialgebiet der Medizin und Biologie, bei dem nicht kinematographische Aufnahmen von hervorragendem Wert für Unterrichts- und Forschungszwecke sein können.

Bei Untersuchungen von Gewebekulturen sowie beim Studium von Bewegungszuständen an überlebenden embryonalen Organen kann man die Mithilfe der Kinematographie kaum noch entbehren. Es sei hier nur an die Mikroaufnahmen mit Zeitraffer von Wachstumsvorgängen an Gewebeteilen, besonders Krebszellenverhältnissen, erinnert, wie sie *Canti* so wundervoll im Film dargestellt hat. Für den Bewegungsphysiologen sowie für den Psychiater und Neurologen ist die Zeitlupe ein unentbehrliches Forschungsinstrument geworden zur Analysierung von Bewegungsstörungen aller Art. In gleicher Weise gilt dies für das Studium der Ausdrucksmotorik. Bei der Erforschung der Stimmlebensfähigkeit können nach den verdienstvollen Untersuchungen von *Panconelli-Calzia* (Phonetisches Institut der Universität Hamburg) erst mit Hilfe der Hochfrequenz-Kinematographie Aufschlüsse über den ganzen Schwingungsmodus gewonnen werden.

Auf die vielfachen weiteren Anwendungsmöglichkeiten des Filmes allein in der Medizin und Biologie sowie auf die für jeden

besonderen Zweck sehr verschiedenartige Aufnahmetechnik kann hier nicht näher eingegangen werden. Die „Deutsche medizinische Wochenschrift“ bringt seit 1932 in der Rubrik „Medizinische Kinemato- und Photographie“ unter redaktioneller Mitarbeit von Professor *Dr. A. W. Fischer* und Privatdozent *Dr. E. Herz* in Frankfurt a. M. sehr aufschlußreiche Aufsätze hierüber, auf die hiermit hingewiesen werden soll. Im Vordergrund des allgemeinen Interesses steht auch die Verwendung der Kinematographie vor allem zur naturgetreuen Reproduktion zeitraubender Tierexperimente, die nicht immer gefahrlos und häufig auch nicht jederzeit beliebig wiederholt werden können. Ganz besonders ist der Film hier berufen, bei Vorträgen überflüssige Tierexperimente zu ersetzen.

Im Jahre 1925 gründete die Pharmazeutisch-wissenschaftliche und serobakteriologische Abteilung der I. G. Farbenindustrie eine Arbeitsgemeinschaft mit dem *Rothschen* Institut in Berlin. Die für die besonderen Zwecke der pharmazeutischen Industrie notwendige Organisation des medizinischen Filmbetriebs machte jedoch bereits 1926 die Schaffung einer eigenen Filmwerkstatt dringend notwendig. Die Hauptaufgabe dieser neugegründeten Produktionsstätte für medizinisch-biologische Filme sollte dabei die Herstellung von Laufbildern sein, die bestimmte Arbeitsmethoden aus unseren Laboratorien und Betrieben veranschaulichen, und zwar in einer streng fachwissenschaftlichen Darstellungsform. Wir wollten ganz allgemein das wissenschaftliche Interesse wecken, aufklärend und belehrend wirken und wichtige experimentelle Ergebnisse unserer Forschungslaboratorien demonstrieren. Chemotherapeutische *in vitro*- und *vivo*-Versuche, die als Modell für die Prüfung neuer chemischer und biologischer Präparate dienen, werden hier im Film naturgetreu, jedoch ohne dramatischen Aufbau, rein sachlich, dem wissenschaftlichen Tatsachenmaterial entsprechend, dokumentarisch festgehalten, so daß sich der Betrachter ein genaues Urteil darüber bilden kann, wie wir unsere Präparate prüfen. Gleichzeitig

werden in möglichst lückenloser Darstellung die einzelnen Phasen des im Tierversuch reproduzierten Krankheitsablaufs im Laufbild veranschaulicht. Damit werden die zu ganz verschiedenen Zeiten ablaufenden Krankheitsstadien unabhängig von der meist schwierigen Materialbeschaffung in richtiger Reihenfolge lebendig reproduzierbar.

Im besonderen Maße gilt dies auch für die Erfassung und Demonstration von Entwicklungsabläufen der wichtigsten Zoo-Parasiten, die als Krankheitserreger bei Mensch und Tier von Bedeutung sind. Die aus den Eiern der betreffenden geschlechtsreifen Parasiten ausschlüpfenden Larven müssen gewöhnlich einen langen Entwicklungsgang in Zwischenwirten aus den aller-versehiedensten Klassen und Ordnungen des Tierreiches durchlaufen, ehe sie sich wieder zur geschlechtsreifen, menschen- oder tierpathogenen Form entwickeln können. Mit geeigneten kinematographischen Spezialapparaturen gelingt es nun, diesen Entwicklungsgang, der in nicht immer leicht zugänglichen Tieren und zu ganz verschiedenen Zeiten abläuft, festzuhalten und dann in richtiger Aufeinanderfolge lebendig zu reproduzieren. Mit Hilfe derartiger Filme kann man einem beliebig großen Zuhörerkreis das wichtigste biologische Tatsachenmaterial, das die Grundlage für alle Bekämpfungsmaßnahmen bildet, in ganz kurzer Zeit im bewegten Bilde lebenswahr demonstrieren und dabei gleichzeitig die verschiedenen verletzbaren Punkte, die für eine praktische Krankheitsbekämpfung in Frage kommen, eindrucksvoll erklären.

Bezüglich des Aufbaues der Filme ist zu erwähnen, daß neuerdings jeder Film aus einem so kurz wie möglich gehaltenen Hauptteil und einem oder mehreren ausführlicheren Nebenteilen besteht. Im Hauptteil wird unter Ansschaltung aller fachwissenschaftlichen oder technischen Einzelheiten nur in großen Zügen z. B. der Werdegang bei der Herstellung der Sera und Impfstoffe gezeigt. Die Nebenteile, die alsdann die Ergänzungen bis ins einzelne bringen, können an den betreffenden Stellen nach Belieben

besonderen Zweck sehr verschiedenartige Aufnahmetechnik kann hier nicht näher eingegangen werden. Die „Deutsche medizinische Wochenschrift“ bringt seit 1932 in der Rubrik „Medizinische Kinemato- und Photographie“ unter redaktioneller Mitarbeit von Professor *Dr. A. W. Fischer* und Privatdozent *Dr. E. Herz* in Frankfurt a. M. sehr aufschlußreiche Aufsätze hierüber, auf die hiermit hingewiesen werden soll. Im Vordergrund des allgemeinen Interesses steht auch die Verwendung der Kinematographie vor allem zur naturgetreuen Reproduktion zeitraubender Tierexperimente, die nicht immer gefahrlos und häufig auch nicht jederzeit beliebig wiederholt werden können. Ganz besonders ist der Film hier berufen, bei Vorträgen überflüssige Tierexperimente zu ersetzen.

Im Jahre 1925 gründete die Pharmazeutisch-wissenschaftliche und serobakteriologische Abteilung der I. G. Farbenindustrie eine Arbeitsgemeinschaft mit dem *Rothschen* Institut in Berlin. Die für die besonderen Zwecke der pharmazeutischen Industrie notwendige Organisation des medizinischen Filmbetriebs machte jedoch bereits 1926 die Schaffung einer eigenen Filmwerkstatt dringend notwendig. Die Hauptaufgabe dieser neugegründeten Produktionsstätte für medizinisch-biologische Filme sollte dabei die Herstellung von Laufbildern sein, die bestimmte Arbeitsmethoden aus unseren Laboratorien und Betrieben veranschaulichen, und zwar in einer streng fachwissenschaftlichen Darstellungsform. Wir wollten ganz allgemein das wissenschaftliche Interesse wecken, aufklärend und belehrend wirken und wichtige experimentelle Ergebnisse unserer Forschungs laboratorien demonstrieren. Chemotherapeutische in vitro- und vivo-Versuche, die als Modell für die Prüfung neuer chemischer und biologischer Präparate dienen, werden hier im Film naturgetreu, jedoch ohne dramatischen Aufbau, rein sachlich, dem wissenschaftlichen Tatsachenmaterial entsprechend, dokumentarisch festgehalten, so daß sich der Betrachter ein genaues Urteil darüber bilden kann, wie wir unsere Präparate prüfen. Gleichzeitig

werden in möglichst lückenloser Darstellung die einzelnen Phasen des im Tierversuch reproduzierten Krankheitsablaufs im Laufbild veranschaulicht. Damit werden die zu ganz verschiedenen Zeiten ablaufenden Krankheitsstadien unabhängig von der meist schwierigen Materialbeschaffung in richtiger Reihenfolge lebendig reproduzierbar.

Im besonderen Maße gilt dies auch für die Erfassung und Demonstration von Entwicklungsabläufen der wichtigsten Zoo-Parasiten, die als Krankheitserreger bei Mensch und Tier von Bedeutung sind. Die aus den Eiern der betreffenden geschlechtsreifen Parasiten ausschlüpfenden Larven müssen gewöhnlich einen langen Entwicklungsgang in Zwischenwirten aus den aller- verschiedensten Klassen und Ordnungen des Tierreiches durchlaufen, ehe sie sich wieder zur geschlechtsreifen, menschen- oder tierpathogenen Form entwickeln können. Mit geeigneten kinematographischen Spezialapparaturen gelingt es nun, diesen Entwicklungsgang, der in nicht immer leicht zugänglichen Tieren und zu ganz verschiedenen Zeiten abläuft, festzuhalten und dann in richtiger Aufeinanderfolge lebendig zu reproduzieren. Mit Hilfe derartiger Filme kann man einem beliebig großen Zuhörerkreis das wichtigste biologische Tatsachenmaterial, das die Grundlage für alle Bekämpfungsmaßnahmen bildet, in ganz kurzer Zeit im bewegten Bilde lebenswahr demonstrieren und dabei gleichzeitig die verschiedenen verletzbaren Punkte, die für eine praktische Krankheitsbekämpfung in Frage kommen, eindrucksvoll erklären.

Bezüglich des Aufbaues der Filme ist zu erwähnen, daß neuerdings jeder Film aus einem so kurz wie möglich gehaltenen Hauptteil und einem oder mehreren ausführlicheren Nebenteilen besteht. Im Hauptteil wird unter Aussehaltung aller fachwissenschaftlichen oder technischen Einzelheiten nur in großen Zügen z. B. der Werdegang bei der Herstellung der Sera und Impfstoffe gezeigt. Die Nebenteile, die alsdann die Ergänzungen bis ins einzelne bringen, können an den betreffenden Stellen nach Belieben

eingeschaltet oder auch weggelassen werden, ohne dabei den lückenlos dargestellten Zusammenhang zu zerstören. Dadurch ist es möglich, für bestimmte Vertragszwecke eine größere Anzahl von Kurzfilmen für eine orientierende Übersicht leicht zusammenzustellen. Für einen anderen Zweck können dann bei der Vorführung des Hauptteiles die verschiedenen dazugehörigen Nebenteile vollständig oder teilweise eingeschaltet werden. Hiermit wird auch eine Darstellung der Materie in streng wissenschaftlicher Form in extenso ermöglicht, um z. B. bei Spezialvorlesungen alle Einzelheiten dem Zuhörerkreis vorführen zu können. Vielfach wird es sich sogar empfehlen, zuerst den Hauptteil des Filmes zu zeigen und dann, wenn der Betrachter das Wesentliche des Verganges verstanden hat, die Einzelheiten an den betreffenden Stellen einzuschalten.

Im folgenden soll nun ein kurzer Einblick in die medizinische Filmwerkstätte des I.G.-Werkes Heechst gegeben werden. Den jeweiligen wissenschaftlichen Anforderungen entsprechend, ist diese Filmstelle mit allen notwendigen Spezialgeräten, die als die modernsten ihrer Art anzusehen sind, ausgerüstet. Die gesamte kinematographische Einrichtung besteht aus Aufnahmeapparaturen für makroskopische und mikroskopische Zwecke, ferner einer Trickfilmmaschine neuester Konstruktion. Außerdem sind die üblichen Geräte für die Filmherstellung vom belichteten Negativ bis zum vorführungsfertigen Positiv sowohl für Normalfilm als auch für 16-mm-Schmalfilm vorhanden.

Hinsichtlich der makroskopischen Aufnahmeapparatur (Dehrie-Modell „L“) sind in filmtechnischer Beziehung keine weiteren Besonderheiten zu erwähnen, als daß für die reichlich in Anwendung kommenden Groß- bzw. Nahaufnahmen alle neuesten Hilfsmittel vorhanden sind (Optik: Zeiss-Jena). Es sollen nachfolgend auch nur die für die medizinischen Industriefilmaufnahmen gebrauchten Spezialgeräte und die Zweckmäßigkeiten ihrer Konstruktion angeführt werden, sowie anschließend eine Übersicht über die bis jetzt fertigen Filme folgen.

Erklärung der Nummern

zur Abbildung 1.

1. Stativ-Staue für den Aufnahmeapparat.
2. Kinaufnahmeapparat.
3. Übergewicht.
4. Statzen mit Spezial-Objektiv und Lichtabschluß.
5. Einstellungsatz mit einem total-reflektierenden und einem 97% durchlässig verbleibenden Prisma einschließlich Periplan-Okular 6.
6. Mikroskop.
7. Hauptlichtquelle Bogenlampe für 50 Ampere auf Kellor (bei Verwendung von Kupferkohlen leidet die asphärische Fläche der Beleuchtungsfläche. Diese Fläche kann nachgeschliffen werden; es wird daher der Lampe für die Zeit der Instandsetzung als Ersatz eine zweite asphärische Linse beigegeben)
8. Abzugsvorrichtung für die Dämpfe der Bogenlampe.
9. Kühlkärtchen.
10. Optische Bank.
11. Tisch mit Schwingvorrichtung
12. Eisener Grundplatte mit Anschlag. Fußklammern für das Mikroskop und Gummilunterlage.
13. Hilflichtquelle Leitz-Speziallampe mit Niedervollgüßbirne (6 Volt, 5 Ampere) im Gehäuse auf Eisenfuß.
14. Ein- und ausschaltbarer Spiegel auf Reflektativität mit Drahtauslöser.
15. Automatischer Auslöser.
16. Blendschirm vor dem Mikroskop
17. Kohlensäureflasche zum Arbeiten mit dem Kühltisch.

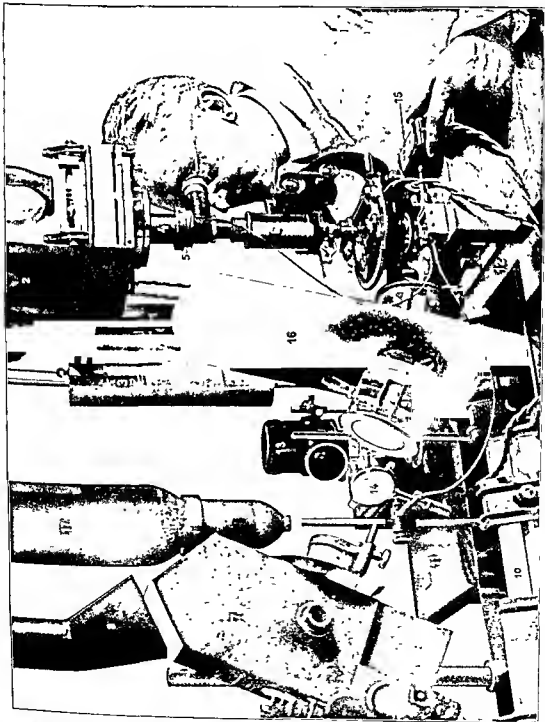


Abb. 1

Mikro-Kino-Apparatur

eingeschaltet oder auch weggelassen werden, ohne dabei den lückellos dargestellten Zusammenhang zu zerstören. Dadurch ist es möglich, für bestimmte Vortragszwecke eine größere Anzahl von Kurzfilmen für eine orientierende Übersicht leicht zusammenzustellen. Für einen anderen Zweck können dann bei der Vorführung des Hauptteiles die verschiedenen dazugehörigen Nebenteile vollständig oder teilweise eingeschaltet werden. Hiermit wird auch eine Darstellung der Materie in streng wissenschaftlicher Form in extenso ermöglicht, um z. B. bei Spezialvorlesungen alle Einzelheiten dem Zuhörerkreis vorführen zu können. Vielfach wird es sich sogar empfehlen, zuerst den Hauptteil des Filmes zu zeigen und dann, wenn der Betrachter das Wesentliche des Vorganges verstanden hat, die Einzelheiten an den betreffenden Stellen einzuschalten.

Im folgenden soll nun ein kurzer Einblick in die medizinische Filmwerkstätte des I.G.-Werkes Hoechst gegeben werden. Den jeweiligen wissenschaftlichen Anforderungen entsprechend, ist diese Filmstätte mit allen notwendigen Spezialgeräten, die als die modernsten ihrer Art anzusehen sind, ausgerüstet. Die gesamte kinematographische Einrichtung besteht aus Aufnahmeapparaturen für makroskopische und mikroskopische Zwecke, ferner einer Trickfilmmaschine neuester Konstruktion. Außerdem sind die üblichen Geräte für die Filmherstellung vom belichteten Negativ bis zum vorführungsfertigen Positiv sowohl für Normalfilm als auch für 16-mm-Schmalfilm vorhanden.

Hinsichtlich der makroskopischen Aufnahmeapparatur (Debie-Modell „L“) sind in filmtechnischer Beziehung keine weiteren Besonderheiten zu erwähnen, als daß für die reichlich in Anwendung kommenden Groß- bzw. Nahaufnahmen alle neuesten Hilfsmittel vorhanden sind (Optik: Zeiss-Jena). Es sollen nachfolgend auch nur die für die medizinischen Industriefilmaufnahmen gebrachten Spezialgeräte und die Zweckmäßigkeiten ihrer Konstruktion angeführt werden, sowie anschließend eine Übersicht über die bis jetzt fertigen Filme folgen.

1. The first part of the document is a letter from the President of the United States to the Congress, dated January 1, 1861. It is a very important document, as it sets out the President's policy for the new year. The President states that he is pleased to see the Congress assembled, and that he is confident that the country is in a good position to meet the challenges of the future. He also mentions the recent election of Abraham Lincoln as President, and expresses his confidence in Lincoln's ability to lead the country.

2. The second part of the document is a report from the Secretary of the Treasury, dated January 1, 1861. It provides a detailed account of the financial state of the country at the beginning of the year. The report states that the country is in a sound financial position, with a strong and stable currency. It also mentions the recent election of Abraham Lincoln as President, and expresses confidence in Lincoln's ability to lead the country. The report concludes by stating that the Secretary is confident that the country is in a good position to meet the challenges of the future.

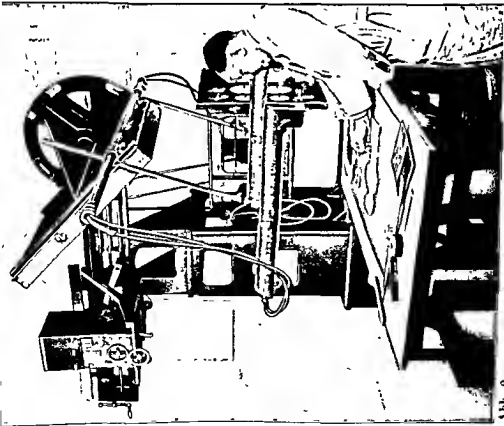


Abb. 2

Trickfilmmaschine

1. Fährbarer Schlitten mit Aufnahmenapparat
2. Spiegel
3. Quecksilberlampen
4. Zentral-Schalttafel

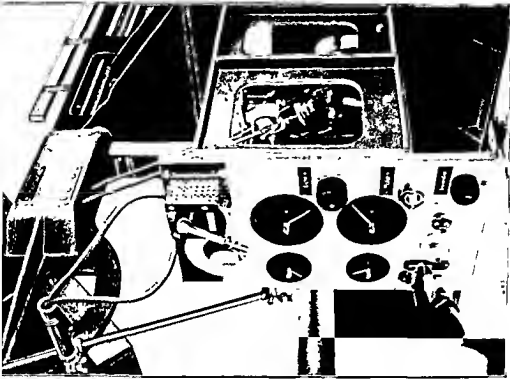


Abb. 3

Zentral-Schalttafel mit einem motorisch angetriebenen Beleuchtungsautomaten für Vor- und Rückwärtsgang und Zwischengetriebe (2)

Für den Mikrobiologen ist die technische Verbindung von Mikroskop und kinematographischem Aufnahmeapparat ein besonders wertvolles Hilfsmittel. In der medizinischen Filmstelle in Frankfurt a. M.-Hoechst hat sich für mikroskopische Objekte das Mikro-Kino der optischen Werke E. Leitz in Wetzlar gut bewährt.

Ein besonderer Vorzug dieses mikrokinematographischen Aufnahmegerätes ist, daß durch geschickte zweckmäßige Anordnung aller einzelnen Teile eine wesentliche Ersparnis an Zeit auch bei schwierigen Aufnahmen gewährleistet wird. Alle notwendigen Hantierungen können bequem vom Beobachtersitz ohne Beeinträchtigung der Einstellung sowie der dauernden Beobachtung des mikroskopischen Präparates auch während der Aufnahme durch Betätigung entsprechender Hand- und Fußkontakte erfolgen.

Die gesamte Einrichtung, bestehend aus den üblichen drei Hauptbestandteilen: Mikroskop, Aufnahmeapparat und Beleuchtungsanlage, ist auf einem Tisch (*Abb. 1, Nr. 11*) montiert und mit diesem vollständig zwischen Federn schwingend aufgehängt nach dem Prinzip der *Leitz*sehen Schwingvorrichtung, die sich in der Mikrophotographie bereits sehr bewährt hat. Der Beobachter sitzt nicht an der Längsseite der Apparatur, sondern hinter dem normal aufgestellten Vertikalmikroskop, ganz wie beim gewöhnlichen Mikroskopieren. Das Mikroskop steht auf einer schweren eisernen Grundplatte (*Abb. 1, Nr. 12*), die auf einer dicken Gummipolsterung auf dem Tisch aufliegt. Die Befestigungssehrauben sind wiederum mit dicken Gummiverkleidungen versehen. Es ist auf diese Weise so weitgehend wie möglich erreicht, daß eine Übertragung der in der Mikrokinematographie so gefürchteten Erschütterungen von außen auf Mikroskop und Aufnahmeapparat so gut wie ausgeschlossen ist. Einstellbare Anschlagleisten ermöglichen es, das Mikroskop immer wieder an den einmal justierten Platz zu stellen.

Der Aufnahmeapparat hängt in der Höhe verstellbar senkrecht über der optischen Achse des Vertikalmikroskops an einer

seitlich am Tisch befestigten Stativsäule (*Abb. 1, Nr. 1*) mit federnder Aufhängevorrichtung und Übergewicht (*Abb. 1, Nr. 3*) zum Ausbalancieren der verschiedenen Höheneinstellungen. Zum bequemen Einlegen und Auswechseln des Filmes kann der Aufnahmeapparat horizontal hochgeklappt werden. Über die Arbeitsweise bei den besonders schwierigen Dunkelfeldaufnahmen wird an anderer Stelle berichtet werden.

Je nach der Anzahl der in bestimmten Zeitintervallen aufgenommenen Einzelbildden können Bewegungsvergänge, die für unser Auge zu rasch verlaufen, um in ihrem Ablauf zur genauen Beobachtung zu gelangen, durch Steigerung der Aufnahme- frequenz zeitlich so gedehnt werden, daß sie in alle ihre Einzelphasen zerlegt sichtbar sind (Zeitlupenaufnahmen). Andererseits ist es mit Hilfe des Filmes möglich, unmerklich langsam verlaufende Bewegungen, wie Entwicklungs- und Wachstumsvergänge ein- und mehrzelliger Organismen, durch Herabsetzung der Aufnahme- frequenz zeitlich dermaßen zusammenzuraffen, daß Bewegungsäußerungen, die oft viele Tage und Wochen brauchen, um in Erscheinung zu treten, innerhalb weniger Sekunden vor unserem Auge sich abrollen (Zeitrafferaufnahmen). Gerade im Hinblick auf diese beiden Möglichkeiten ist der Film im Dienste der Wissenschaft ein reines Forschungsmittel. Der Mikrokine- matographie im besonderen bietet sich hier ein unermeslich weites und dankbares Betätigungsfeld.

Im medizinischen Film werden die Naturaufnahmen hin und wieder durch gezeichnete Trickfilme erläutert und folgerichtig ergänzt. Auch hierfür ist eine ganz neuartige Apparatur vorhanden, die nachfolgend kurz gekennzeichnet werden soll. Die Trickfilmmaschine¹⁾ (*Abb. 2*) besteht aus einem besonders schweren, erschütterungsfreien Stativ mit fahrbarem Schlitten, der den Aufnahmeapparat trägt. Eine Skala ermöglicht rasch die für jeden gewünschten Bildausschnitt erforderliche

¹⁾ Hersteller ist die durch ihre Werbefilme bekannte Firma Excentric-Film Zorn & Tiller G. m. b. H. in Berlin.

Scharfeinstellung. Die Flügelhlende im Apparat ist von außen automatisch verstellbar. Außerdem ist eine leicht einschaltbare Bildprojektionsvorrichtung vorhanden, um Natraufnahmen mit gezeichneten Trickfiguren beliebig kombinieren zu können. Gegenüber vom Aufnahmeapparat ist ein mit dem Stativ beweglich verbundener, gewöhnlich unter 45° geneigter großer Spiegel angebracht, der das aufzunehmende Bild vom Zeichentisch auf den Filmstreifen im Aufnahmeapparat projiziert. Zur Beleuchtung der gezeichneten Figuren sind Quecksilberöhrenlampen seitlich über dem Zeichentisch montiert.

Auf einer Zentralschalttafel (*Abb. 3*) befinden sich alle zur Aufnahme notwendigen Bedienungshel und Registriervorrichtungen vereinigt. „Von dieser einen Stelle aus kann man den Lichtstrom regeln, die Irishlende verstellen, die Zahl und die Zeiten der Belichtungen regulieren. Mehrere miteinander gekuppelte Uhren ermöglichen genaueste Festlegung der Einzelbilder für Einbelichtungen, Überblendungen usw. Hinter der Schalttafel ist ein motorisch angetriebener Belichtungsautomat für Vor- und Rückwärtsgang und Zwischengetriebe eingebaut.“ (*Excentric-Film-Bericht 1929.*)

Diese Trickfilmmaschine ermöglicht in rationeller Weise die Herstellung technisch vollendeter Trickzeichnungen, was sonst nur mit zeitrauhenden und umständlichen Arbeitsweisen erreichbar ist.

Der Werdegang eines medizinischen Präparates hietet sowohl in arzneimittelsynthetischer Hinsicht wie auch in bezug auf die spezielle pharmakologische, chemotherapeutische und serohakteriologische Untersuchungsmethodik der Kinematographie eine Fülle von Anwendungsmöglichkeiten. Aus unserem Archiv für medizinisch-wissenschaftliche Filme sollen nachfolgend noch einige typische Beispiele angeführt werden.

Es sei besonders auf die Bedeutung des Aushaues neuer Arbeitsmethoden bei der Kreislaufforschung hingewiesen. Der Film zeigt hier eine Übersicht über einige der wichtigsten

Standardmethoden zur Erforschung des Kreislaufmotors, die Methode der Elektrokardiographie, die der Anzeichnung der rhythmischen Herztätigkeit dient, ferner die Versuchsanordnungen bei Gefäßpräparaten zum Studium des peripheren Leitungssystems der Gefäße am Kaninchenohr nach *Krakow-Pisscinski* und am Froschpräparat von *Läwen-Trendelenburg*, anschließend Mikraufnahmen der Kapillaren von Lunge und Harnblase. Sodann wird noch das Verhalten größerer Gefäßgebiete am Warmblüter mit der Methodik der Thermostromuhr nach *Rein* zur Messung der Stromgeschwindigkeit im Blutgefäß demonstriert. Ein anderer Film über die biologische Auswertung von Digitaliskörnern zeigt die Methodik zur Digitalisauswertung am Froschherzen nach *Focke* und nach *Straub-Heffter*. Bei der Auswertung synthetischer Präparate für die Lokalanästhesie wird z. B. beim Novocain die Wirkung dieses Lokalanästhetikums im Unterhautzellgewebe, am Nervenstamm und an der Schleimhaut im Film gezeigt. Am Kaltblüter- und Warmblütersversuchsmodell werden die wichtigsten pharmakologischen Eigenschaften des Suprarenin (die Gefäßkontraktion im Kapillargebiet, die blutdruckerhöhende Wirkung), anschließend die Blutdrucksenkung durch Novocain und Cocain sowie deren Umkehrung in eine Blutdrucksteigerung durch Suprarenin filmisch demonstriert. Weiterhin ist die Wirkung der Novocain-Suprarenin-Carpule-Spritze in der Zahnheilkunde bei einer Wurzelresektion im Laufbild festgehalten. Die chemische Darstellung eines Schlafmittels und seine sedative Wirkung wird im Novonal-Film am Hund und dann an der Katze vorgeführt. Die verschiedenen Narkosestadien an Tieren und Menschen bei rektaler und intravenöser Applikation von Avertin sind ebenfalls im Laufbild festgehalten. In seinem Tierversuche mit Hexeton zeigt Professor *Dr. E. Leschke* im Film die Wirkung auf die Herztätigkeit am Froschherzen, Wirkung auf das Atemzentrum an einem morphinisierten Kaninchen. Das chemische Verhalten der Campher-

Lösung „Hoechst“ gegenüber Campheröl, ferner pharmakologische Wirkung, wie Krampfwirkung am Muskel des Blutegels, Wirkung am Kaltblüterherz, heilende Wirkung auf das Atemzentrum im Warmblüterversuch, Resorption des Camphers aus Wasser, Öl und Diaethylin sind kinematographisch aufgenommen. Auf dem in den letzten Jahren erfolgreich bearbeiteten Gebiete der Vitaminuntersuchungen sind die Versuche, die zur Darstellung des Vigantol geführt haben, für den Mediziner von Interesse. Der Film zeigt hier die Bedeutung der Vitaminarten C und D, Entstehung und Heilung der Rachitis im Tierversuch, Bestrahlung von Ergosterin im Laboratoriumsversuch, Prüfung und Auswertung des Vigantol an Ratten, Heil Anwendung und prophylaktische Wirkung an einigen klinischen Bildern.

Einige wichtige Ergebnisse der Hormonforschung sind gleichfalls kinematographisch dargestellt. Es werden im Film gezeigt: Das Hormon des Nehenierenmarkes Suprarenin, das als erstes Hormon synthetisch aufgearbeitet ist, ferner Insulin, ein den Blutzucker regulierendes Hormon aus den *Langerhans*-schen Inseln des Pankreas, weiter das Thyroxin aus der Schilddrüse, Steigerung des Blut-Kalk-Spiegels durch Nebenschilddrüsenhormon, Hypophysen-Hinterlappen-Hormone, Uteruskontraktion durch Orasthin ohne Beeinflussung des Blutdrucks, Darmkontraktion und Blutdrucksteigerung durch Tonephin; Vorderlappen-Hormon-Wirkungen: Riesenwachstum, Wirkung auf die Sexualorgane und auf die Schilddrüse; Ovarialhormon und Testikelhormon. Darstellung und Standardisierung nebst Wirkung des Hypophysin, eines Extraktes vom Hinterlappen der Glandula pituitaria, das alle wirksamen Hormone dieser Gehirndrüse enthält, sind ebenfalls im Laufbild festgehalten.

Die chemischen Beziehungen zwischen Teerfarbstoffen und Arzneistoffen, ausgehend vom Benzolkern, werden an Hand von bewegten Triekbildern mit eingeschalteten Naturaufnahmen leicht einprägsam im Film veranschaulicht. Der Film ist als wissenschaftliche Dokumentation auch in der experimentellen

Standardmethoden zur Erforschung des Kreislaufmotors, die Methode der Elektrokardiographie, die der Aufzeichnung der rhythmischen Herztätigkeit dient, ferner die Versuchsanordnungen bei Gefäßpräparaten zum Studium des peripheren Leitungssystems der Gefäße am Kaninchenohr nach *Krakow-Pissemski* und am Froschpräparat von *Läwen-Trendelenburg*, anschließend Mikroaufnahmen der Kapillaren von Lunge und Harnblase. Sodann wird noch das Verhalten größerer Gefäßgebiete am Warmblüter mit der Methodik der Thermostromuhr nach *Rein* zur Messung der Stromgeschwindigkeit im Blutgefäß demonstriert. Ein anderer Film über die biologische Auswertung von Digitaliskörpern zeigt die Methodik zur Digitalisauswertung am Froschherzen nach *Focke* und nach *Straub-Heffter*. Bei der Auswertung synthetischer Präparate für die Lokalanaesthesie wird z. B. beim Novocain die Wirkung dieses Lokalanaesthetieums im Unterhautzellgewebe, am Nervenstamm und an der Schleimhaut im Film gezeigt. Am Kaltblüter- und Warmblüterversuchsmodell werden die wichtigsten pharmakologischen Eigenschaften des Suprarenin (die Gefäßkontraktion im Kapillargebiet, die blutdruckerhöhende Wirkung), anschließend die Blutdrucksenkung durch Novocain und Cocain sowie deren Umkehrung in eine Blutdrucksteigerung durch Suprarenin filmisch demonstriert. Weiterhin ist die Wirkung der Novocain-Suprarenin-Carpule-Spritze in der Zahnheilkunde bei einer Wurzelresektion im Laufbild festgehalten. Die chemische Darstellung eines Schlafmittels und seine sedative Wirkung wird im Novonal-Film am Hund und dann an der Katze vorgeführt. Die verschiedenen Narkosestadien an Tieren und Menschen bei rektaler und intravenöser Applikation von Avertin sind ebenfalls im Laufbild festgehalten. In seinem Tierversuche mit Hexeton zeigt Professor *Dr. E. Leschke* im Film die Wirkung auf die Herztätigkeit am Froschherzen, Wirkung auf das Atemzentrum an einem morphinisierten Kaninchen. Das chemische Verhalten der Campher-

sowie die Gewinnung und Auswertung der verschiedenen Sera und Impfstoffe im Film sehr instruktiv demonstriert. In der Chirurgie kommt der Kinematographie bekanntlich eine besonders wichtige Aufgabe für den Universitätsunterricht zu. In unserem Archiv sind auch einige Operationslehrfilme vorhanden, wie: Operation einer Struma in Lokalanaesthesie, ferner Operation einer Hydrocele und Leistenhernie in Lokalanaesthesie mit Novocain-Suprarenin-Lösung und die Plastische Operation der Mammahypertrophie nach *Axhausen*. In ähnlicher Weise wurden auch verschiedene zahnärztliche Operationen für Lehrzwecke im Film dargestellt. In enger Zusammenarbeit mit veterinär-medizinischen Instituten und Kliniken konnten auch für die Tierheilkunde wichtige kinematographische Aufnahmen hergestellt werden. In Epiduralanaesthesia mit Tutoeain beim Rinde nach Professor *Dr. Götz*, Hannover, wird die örtliche Betäubung durch Injektion von Tutoeain in die Schwanzwurzel bei der Operation eines Dammrisses einer Kuh gezeigt, ferner die Resektion einer Rippe bei einer Kuh nach Injektion in die seitlichen Nerven der drei letzten Rippen und Amputation einer Zehe beim Hunde in örtlicher Betäubung mit Tutoeain. Außerdem wurden in der Klinik für Geburtshilfe und Rinderkrankheiten der Tierärztlichen Hochschule Hannover, Dir. Professor *Dr. Götz*, Filmaufnahmen über die klinische Untersuchung der Milchdrüsen beim Rind mit speziellen Bekämpfungsmaßnahmen gegen den gelben Galt angefertigt. In Verbindung mit uns hat auch das Veterinärhygienische und Tierseuchen-Institut der Universität Gießen, Direktor Professor *Dr. Zwick*, einen ausführlichen Lehrfilm über die infektiöse Gehirn- und Rückenmarkentzündung (*Bornasche Krankheit*) = B. K. der Pferde aufnehmen lassen. In unserem Institut zur Bekämpfung der Virus-Schweinepest Eystrup (Weser) wurde der Werdegang des deutschen Immunserrums gegen Virus-Schweinepest verfilmt.

Auf dem Gebiete der Geflügelzucht und Geflügelkrankheiten werden rationelle Hühnerzucht zur Eierpro-

Chemotherapie verwerthar, um bei der Auswertung von Arzneimitteln im Laboratorium wichtige Untersuchungsbefunde für spätere Vergleiche festzuhalten. Ein Film zeigt hier die experimentelle Begründung der Rivanol-Therapie, die spezifisch antiseptische Wirkung gegenüber Staphylokokken und Streptokokken im vitro- und vivo-Versuch, sowie den grundlegenden subkutanen Desinfektionsversuch nach *Morgenroth* mit Demonstration der chemotherapeutischen Desinfektion eines geschlossenen Infektionsherdes an weißen Mäusen. Ein anderer chemotherapeutischer Film veranschaulicht

Entwicklung der Syphilistherapie bis zum Salvarsan und ihre theoretischen Grundlagen (gemeinsam mit dem Staatl. Institut für Experimentelle Therapie, Dir. Geh.-Rat *Kolle*), Herstellung und biologische Auswertung sowie Klinische Wirkung des Salvarsan.

Chemotherapeutische Untersuchungen zur Amöbenruhr wurden gleichfalls kinematographisch aufgenommen. Dieser Film demonstriert Entwicklungsgang der Ruhramoëbe, deren Aufnahme durch den Menschen und ihre Vermehrung im menschlichen Körper an Hand von schematischen Zeichnungen und mikroskopischen naturgetreuen Bildern. Anschließend wird die Untersuchungsmethodik im Reagensglasversuch sowie im Tierversuch gezeigt und zum Schluß folgt die pharmakologische Wirkung einer Akridinverbindung. Chemotherapeutische Untersuchungen mit Trypanosomen, den Erregern der Schlafkrankheit und anderer Seuchen, im Laboratorium wurden im Laufbild festgehalten, um die Wirkung des Präparates Bayer 205 (Germanin) auf Trypanosomen zu zeigen. Ein anderer Film zeigt Bedeutung und Ätiologie der Malaria mit Biologie der Anopheles und Entwicklungsgang des Malariaparasiten, ferner chemotherapeutische Untersuchungen über Malaria im Laboratorium sowie Bekämpfung und Behandlung der Malaria in der Praxis.

Für die Serum- und Impfstofftherapie ist die Darstellung der zur Immunisierung der Tiere benutzten Antigene

sowie die Gewinnung und Auswertung der verschiedenen Sera und Impfstoffe im Film sehr instruktiv demonstriert. In der Chirurgie kommt der Kinematographie bekanntlich eine besonders wichtige Aufgabe für den Universitätsunterricht zu. In unserem Archiv sind auch einige Operationslehrfilme vorhanden, wie: Operation einer Struma in Lokalanästhesie, ferner Operation einer Hydrocele und Leistenhernie in Lokalanästhesie mit Novocain-Suprarenin-Lösung und die Plastische Operation der Mammahypertrophie nach *Axhausen*. In ähnlicher Weise wurden auch verschiedene zahnärztliche Operationen für Lehrzwecke im Film dargestellt. In enger Zusammenarbeit mit veterinär-medizinischen Instituten und Kliniken konnten auch für die Tierheilkunde wichtige kinematographische Aufnahmen hergestellt werden. In Epiduralanästhesie mit Tutocain beim Rindenach Professor *Dr. Götze*, Hannover, wird die örtliche Betaubung durch Injektion von Tutocain in die Schwanzwurzel bei der Operation eines Dammrisses einer Kuh gezeigt, ferner die Resektion einer Rippe bei einer Kuh nach Injektion in die seitlichen Nerven der drei letzten Rippen und Amputation einer Zehe beim Hunde in örtlicher Betäubung mit Tutocain. Außerdem wurden in der Klinik für Geburtshilfe und Rinderkrankheiten der Tierärztlichen Hochschule Hannover, Dir. Professor *Dr. Götze*, Filmaufnahmen über die klinische Untersuchung der Milchdrüsen beim Rind mit speziellen Bekämpfungsmaßnahmen gegen den gelben Galt angefertigt. In Verbindung mit uns hat auch das Veterinärhygienische und Tierseuchen-Institut der Universität Gießen, Direktor Professor *Dr. Zwick*, einen ausführlichen Lehrfilm über die infektiöse Gehirn- und Rückenmarkentzündung (*Bornasche Krankheit*) = B. K. der Pferde aufnehmen lassen. In unserem Institut zur Bekämpfung der Virus-Schweinepest Eystrup (Weser) wurde der Werdegang des deutschen Immunserums gegen Virus-Schweinepest verfilmt.

Auf dem Gebiete der Geflügelzucht und Geflügelkrankheiten werden rationelle Hühnerzucht zur Eierpro-

Chemotherapie verwerthar, um bei der Auswertung von Arzneimitteln im Laboratorium wichtige Untersuchungsbefunde für spätere Vergleiche festzuhalten. Ein Film zeigt hier die experimentelle Begründung der Rivanol-Therapie, die spezifisch antiseptische Wirkung gegenüber Staphylokokken und Streptokokken im vitro- und vivo-Versuch, sowie den grundlegenden subkutanen Desinfektionsversuch nach *Morgenroth* mit Demonstration der chemotherapeutischen Desinfektion eines geschlossenen Infektionsherdes an weißen Mäusen. Ein anderer chemotherapeutischer Film veranschaulicht

Entwicklung der Syphilistherapie bis zum Salvarsan und ihre theoretischen Grundlagen (gemeinsam mit dem Staatl. Institut für Experimentelle Therapie, Dir. Geh.-Rat *Kolle*), Herstellung und biologische Antwortung sowie Klinische Wirkung des Salvarsan.

Chemotherapeutische Untersuchungen zur Amöbenruhr wurden gleichfalls kinematographisch aufgenommen. Dieser Film demonstriert Entwicklungsgang der Ruhramoche, deren Aufnahme durch den Menschen und ihre Vermehrung im menschlichen Körper an Hand von schematischen Zeichnungen und mikroskopischen naturgetreuen Bildern. Anschließend wird die Untersuchungsmethodik im Reagensglasversuch sowie im Tierversuch gezeigt und zum Schluß folgt die pharmakologische Wirkung einer Akridinverbindung. Chemotherapeutische Untersuchungen mit Trypanosomen, den Erregern der Schlafkrankheit und anderer Seuchen, im Laboratorium wurden im Laufbild festgehalten, um die Wirkung des Präparates Bayer 205 (Germanin) auf Trypanosomen zu zeigen. Ein anderer Film zeigt Bedeutung und Ätiologie der Malaria mit Biologie der Anopheles und Entwicklungsgang des Malariaparasiten, ferner chemotherapeutische Untersuchungen über Malaria im Laboratorium sowie Bekämpfung und Behandlung der Malaria in der Praxis.

Für die Serum- und Impfstofftherapie ist die Darstellung der zur Immunisierung der Tiere benutzten Antigene

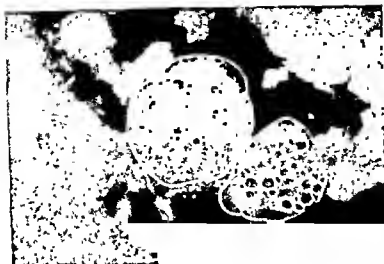


Abb. 4a

Entamoeba histolytica, der Erreger der Amöbenruhr,
im mikroskopischen Dunkelfeld

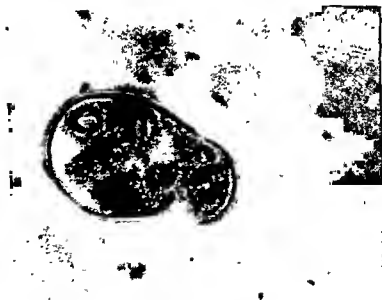


Abb. 4b

Kulturamöbe (*Entamoeba histolytica*)
mit phagozytierten Stärkekörnchen

duktion und einige charakteristische Krankheitsbilder im Laufbild gezeigt.

In der Parasitologie steht die Darstellung der meist sehr komplizierten Entwicklungszyklen im Vordergrund des Interesses, da die experimentellen Arbeiten sich hier auf genaueste Kenntnis der Biologie gründen. So wurde Entstehung und Bekämpfung der Leberegelseuche gefilmt. Nach einem kurzen statistischen Hinweis auf die volkswirtschaftliche Bedeutung und die hohen Verluste durch die Leberegelseuche wird eingehend der Entwicklungsgang des gemeinen Leberegels (*Fasciola hepatica*) demonstriert. Hierauf folgt ein klinischer Teil, der die Diagnose durch Kotuntersuchung und die Therapie an einem Beispiel zeigt. Die Wirksamkeit des Arzneimittels wird durch Befund bei der Schlachtung genau kontrolliert. Der Entwicklungsgang eines in Deutschland bei Wasservögeln vorkommenden nahen Verwandten der tropischen und subtropischen Bilharzia des Menschen, die Bilharzia des Wassergeflügels, konnten wir in Verbindung mit dem Institut für Schädlingsforschung in Rossitten, Kurische Nehrung (Leiter *Dr. Szidat*), ebenfalls kinematographisch darstellen. Ferner wurde der Entwicklungsgang des Lungenegels vom Menschen (*Paragonimus westermani*) und ein Behandlungsversuch im Tropengenesungsheim in Tübingen (*Dir. Professor Dr. Olpp*) im Laufbild festgehalten. Die Lebensgeschichte des breiten Bandwurmes des Menschen, des Erregers der Bothriocephalanämie (*Diphyllbothrium latum*), ist ebenfalls in einem Film naturgetreu dargestellt. Ein anderer parasitologischer Film zeigt den Entwicklungsgang eines Bandwurmes der Katze (*Taenia taeniaeformis*) mit Zwischenwirt und Übertragungsweise. An Hand eines Trickbildes unter Einschaltung von Mikroaufnahmen wurde weiterhin die Wanderung der Spulwurmlarven im Körper des Schweines mit Entwicklung bis zum geschlechtsreifen Parasiten kinematographisch aufgenommen.

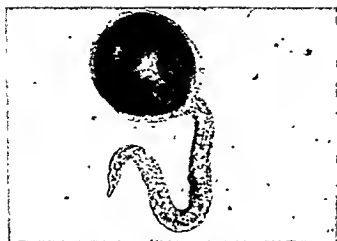


Abb. 6

Encystierung einer Leberegel-Cercarie
(Abwerfen des Ruderschwanzes und Bildung
der invasion-fähigen Cyste)



Abb. 5

Ausschlüpfen einer
Leberegel-Flimmerlarve (Mirazidium)
aus dem Ei

Schließlich haben wir versucht, die wichtigsten Krankheitserregertypen in einem Mikrofilm übersichtlich zusammenzustellen. Es werden hier zunächst gezeigt: Spirochaeten als Krankheitserreger unter Mitarbeit von Professor *Dr. Jahnelt*, des Leiters der Spirochaeten-Forschungs-Ahteilung der deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie in München. Anschließend folgt der Erreger der Amöbenruhr (*Entamoeba histolytica*) unter Mithilfe des Instituts für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg. Weiterhin werden gezeigt Flagellaten als Krankheitserreger (Trypanosomen, Leishmania und Trichomonaden). Von den Haemosporidien wird der Malariaparasit des Menschen im mikroskopischen Dunkelfeld vorgeführt. Hieran schließt sich eine noch nicht ganz abgeschlossene Reihe der pathogenen Helminthen mit einigen typischen Vertretern der Trematoden (Saugwürmer), Cestoden (Bandwürmer) und Nematoden (Fadenwürmer).

In den letzten Jahren konnten wir im Rahmen von Filmvorträgen auf diese Weise teils in internen Veranstaltungen, teils auf wissenschaftlichen Kongressen in mancher Hinsicht aufklärend wirken. Wie aus der engen Zusammenarbeit zwischen wissenschaftlicher Forschung und Industrie hekanntlich schon große Errungenschaften für die Bekämpfung von Krankheiten bei Mensch und Tier erzielt wurden, so dürfte die Organisation des medizinischen Industriefilmes sicher herufen sein, neue Brücken zwischen der Ärztwelt und den Produktionsstätten der Arzneimittel zu schlagen zum Wohle des Volksganzen.



